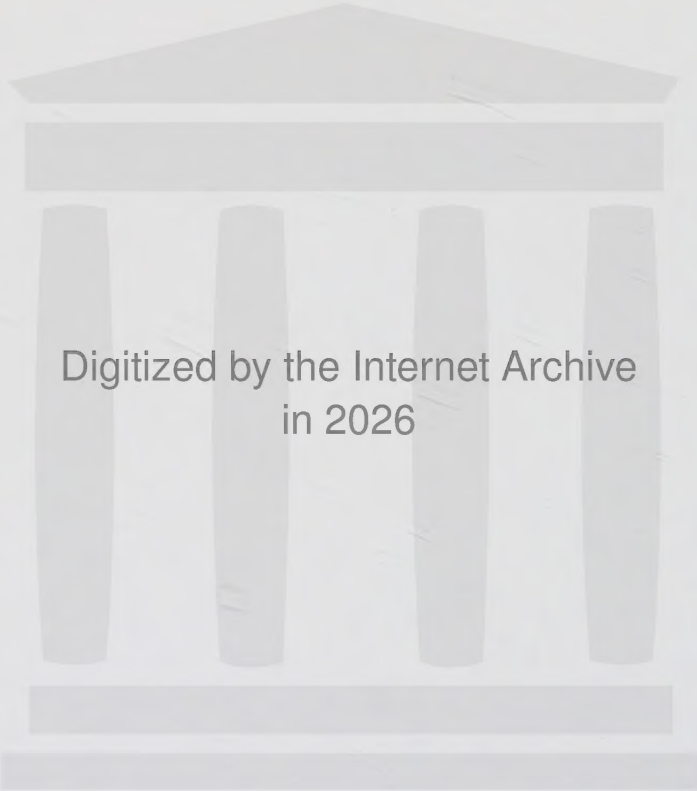


DER „ZWEIFARBSTOFF-TEST“
BEIM HUND ALS QUANTITATIVE
LEBERFUNKTIONSPROBE

Hubert Faussner

Diss
München
1986





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Tierklinik
Lehrstuhl für Innere Krankheiten
des Pferdes und der kleinen Haustiere
sowie für Gerichtliche Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Wilfried Kraft

DER "ZWEIFARBSTOFF - TEST" BEIM HUND
ALS QUANTITATIVE LEBERFUNKTIONSPROBE

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig - Maximilians - Universität
München

von
Hubert Faussner
aus
Neuburg

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker
Referent: Prof. Dr. W. Kraft
Korreferent: Priv.Do. Dr. Dr. habil. F. Graf

Tag der Promotion: 28. Februar 1986

INHALTSVERZEICHNIS

I

ABKÜRZUNGEN

1. EINLEITUNG	1
2. LITERATUR	2
2.1. Leberfunktion	2
2.1.1. Syntheseleistungen	2
2.1.2. Metabolische LEISTUNGEN	2
2.1.3. Elimination- bzw. Sekretionsleistungen	3
2.2. Leberdiagnostik	3
2.2.1. Indikationen für Leberfunktionstests	3
2.2.2. Klinische Untersuchung	4
2.2.3. Enzymaktivitäten	5
2.2.4. Proteinstoffwechsel	8
2.2.5. Lipidstoffwechsel	10
2.2.6. Kohlehydratstoffwechsel	11
2.2.7. Ammoniak und Ammoniak-Toleranztest	12
2.2.8. Bilirubinmetabolismus	12
2.2.9. Leberbiopsie, Histologie	15
2.2.10. Farbstoffeliminationsproben	16
2.3. Bromsulphthalein, BSP	17
2.3.1. Geschichtliche Entwicklung	17
2.3.2. Physikalisch-chemische Eigenschaften	19
2.3.3. Mechanismus der Extraktion durch die Leber	20
2.3.4. Gewebeverteilung und extrahepatische Ausscheidung	24
2.3.5. Enterohepatischer Kreislauf, EHK	26
2.3.6. Einflüsse auf die BSP-Elimination	29
2.3.6.1. Zirkulatorische Einflüsse	29
2.3.6.2. Störungen des Aufnahmemechanismus	29
2.3.6.3. Einflüsse auf Speicherung und Konjugation	29
2.3.6.4. Einflüsse auf die Gallesekretion	29
2.3.6.5. Einflüsse physiologischer Faktoren	30
2.3.6.6. Arzneimittelwirkungen	30
2.3.6.7. Verhalten der BSP-Ausscheidung bei verschiedenen Krankheiten	32

2.3.7. Kinetik der BSP-Ausscheidung	33
2.3.8. Auswertungsverfahren des BSP-Tests	35
2.3.8.1. Direkte Bestimmung der Farbstoffretention	35
2.3.8.2. Indirekte Eliminationsgrößen	36
2.3.8.2.1. Clearance	36
2.3.8.2.2. Fraktionierte Clearance	36
2.3.8.3. Unverträglichkeiten, Zwischenfälle	40
2.4. Zweifarbstofftest, ZFT	40
2.5. Experimentell hervorgerufene Lebererkrankungen	44
3. MATERIAL UND METHODEN	45
3.1. Tiermaterial	45
3.2. Haltung und Fütterung	45
3.3. Materialien zur Durchführung des Tests	45
3.4. Aufstellung der Eichkurven	46
3.5. Durchführung des Tests am Patienten	47
3.6. Arbeiten im Labor	47
4. ERGEBNISSE	49
4.1. Allgemeines	49
4.2. Gesunde Hunde	50
4.3. LC-Cholestase Versuch	51
4.3.1. Enzymaktivitäten	57
4.3.2. Serumbilirubin	57
4.3.3. Sonstige Laboruntersuchungen	58
4.3.4. Klinische Befunde	58
4.3.5. Zweifarbstofftest, ZFT	58
4.3.6. Korrelation zwischen ZFT und Serumenzymwerten bzw. Bilirubinkonzentrationen	59
4.4. Zweifarbstofftest bei Patienten	59
5. DISKUSSION	74
5.1. Werte lebergesunder Hunde	74
5.2. Ermittlung des Grenzwertes zwischen "lebergesund" und "leberkrank"	74

5.3. Werte bei Hunden, die einem LC-Cholestaseversuch unterzogen wurden	72
5.4. Der ZFT bei Patienten mit Erkrankung der Leber und/oder anderer Organsysteme (primäre und sekundäre Hepatopathien)	78
5.4.1. Leberzirrhose	79
5.4.2. Lebertumor	79
5.4.3. Fettleber	80
5.4.4. Magen-Darm-Erkrankungen mit bzw. ohne Hepatopathie	81
5.4.5. Vergiftungen	83
5.4.6. Cushing Syndrom	85
5.4.7. Cystitis	85
5.4.8. Herzinsuffizienz	86
5.4.9. Lebertrauma	87
5.4.10. Anfallskrankheiten	87
5.4.11. Hepatomegalie ungeklärter Genese	88
5.4.12. Hauterkrankungen	89
5.5. Zusammenfassende Wertung des ZFT	89
6. ZUSAMMENFASSUNG	93
7. SUMMARY	94
8. LITERATURVERZEICHNIS	95

Abkürzungen

ALT	Alanin-Amino-Transferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Amino-Transferase
BSP	Bromsulphthalein
CHE	Cholinesterase
CK	Creatin-Kinase
DSH	Deutscher Schäferhund
EHK	Enterohepatischer Kreislauf
EKG	Elektrokardiogramm
g-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase (-Transpeptidase)
GldH	Glutamat-Dehydrogenase
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
ICG	Indocyanningrün
LDH	Lactat-Dehydrogenase
LC	Lithocholsäure
LHD	Langhaardackel
LP-X	Lipoprotein X
NH ₃	Ammoniak
NH ₄	Ammonium
PAH	Pathologische Ausscheidungshemmung
p.i.	post injectionem
PTT	partielle Thromboplastinzeit
RES	Retikulo-endotheliales System
RHD	Rauhhaardackel
SDH	Sorbit-Dehydrogenase
SGS	Serumgallensäuren
TR	Trypan-Rot
ZFT	Zweifarbstofftest

Maße

mg	Milligramm
g	Gramm
kg	Kilogramm
sec	Sekunde
min	Minute
h	Stunde
d	Tag
ml	Milliliter
dl	Deziliter
l	Liter
IU/l	Internationale Einheiten pro Liter

Symbole

<	kleiner als
>	größer als
$\bar{x}$	Durchschnitt



1. EINLEITUNG

Die Leber hat aufgrund ihrer zahlreichen Leistungen für die Erhaltung vielfältiger Funktionen des tierischen ebenso wie des menschlichen Organismus eine entscheidende Bedeutung. Eine Erkrankung dieses Organs manifestiert sich in der Beeinträchtigung einer oder mehrerer Funktionen, sei es nun der Syntheseleistung (Proteine, Galle), der metabolischen Leistung (Kohlehydrate, Fette) oder der Eliminations- bzw. Sekretionsleistung, die zur Entgiftung endogener und exogener Stoffe essentiell ist.

Zur Diagnose primärer Lebererkrankungen oder der sekundären Beteiligung der Leber am Krankheitsgeschehen anderer Organe oder Funktionen dienen neben der klinischen eine Vielzahl von Laboruntersuchungen ebenso wie andere, weitergehende Verfahren (Röntgen, Angio-, Porto-, Cholezystographie, Sonographie, axiale Computertomographie), auf die aber im Rahmen dieser Arbeit nicht näher eingegangen werden kann.

Weit über 100 sogenannter Leberfunktionsproben sind in der Literatur beschrieben (57), eine wichtige Rolle spielen dabei die Farbstoffeliminationsproben. Eine von ihnen, der "Zweifarbstofftest nach Zimmer" soll in der vorliegenden Arbeit auf seine Tauglichkeit im klinischen Einsatz und bei experimentell durch Lithocholsäure induzierter Cholestase beim Hund überprüft werden. Bisher wurden nur in der Humanmedizin umfangreichere Untersuchungen an Patienten mit Lebererkrankungen vorgenommen (113, 142, 143, 144), im veterinärmedizinischen Schrifttum findet sich jedoch lediglich eine Veröffentlichung über den Einsatz dieses Tests beim Hund (93), in der hauptsächlich dessen Verhalten beim gesunden Hund untersucht wird.

Ziel der Arbeit war es, einen durch klinische und Labordiagnostische Untersuchungen und gegebenenfalls pathohistologische Beurteilung von Leberbiopsieproben abgesicherten Grenzwert der Farbstoffelimination zu finden, der möglichst eindeutig zwischen "leberge-sund" und "leberkrank" zu unterscheiden vermag. Es sollte darüber hinaus festgestellt werden, ob der Test weitergehende Aussagen zu machen in der Lage ist, als dies von den bisher erprobten und üblichen Leberfunktionsprüfungen bekannt ist.

2. LITERATUR

2.1. Leberfunktion

2.1.1. Syntheseleitungen

Die Leber hat einen wesentlichen Anteil an der Synthese von Proteinen. Der Hauptanteil des Plasmaproteins (ca. 90-95%), das gesamte Albumin, ca. 80% der Serumglobuline (mit Ausnahme der Gamma-globuline, die vom RES gebildet werden), Prothrombin, Fibrinogen, fast alle Gerinnungsfaktoren und verschiedene Lipo-, Glyko- und Mukoproteine werden in der Leber synthetisiert (12, 45). Der Hepatozyt ist der wichtigste Ort der Cholesterinsynthese und -Veresterung, und er formiert so die Ausgangssubstanz für die Gallensäuren (76, 104).

2.1.2. Metabolische Leistungen

Die Speicherung von Glukose in Form von Glykogen und ihre Freisetzung je nach Bedarf bzw. die Produktion von Glukose aus Protein (Glukoneogenese) zur Aufrechterhaltung eines konstanten Blutzuckerspiegels sind wesentliche Aufgaben der Leber. Reguliert werden diese Mechanismen vorwiegend durch die Hormone Insulin und Glukagon.

2.1.3. Eliminations- bzw. Sekretionsleistungen

Ammoniak, der aus dem Eiweißmetabolismus im Darm und der bakteriellen Aufspaltung von Harnstoff in großer Menge über die Pfortader zur Leber gelangt, wird dort zu Harnstoff entgiftet.

Bilirubin, ein Abbauprodukt des Hämoglobins, wird durch die Leberzelle aufgenommen, mit Glukuronsäure konjugiert und in die Galle sezerniert.

Viele exogene Stoffe, Arzneimittel oder auch bestimmte Farbstoffe (BSP, ICG, Bengalrot) werden über die Leber ausgeschieden.

Voraussetzung intakter Funktion ist die Unversehrtheit der vier Untereinheiten Leberparenchymzellen, Gallengangssystem, Leberblutgefäßsystem und der retikuloendothelialen Zellen der Leber, der sog. Kupfferschen Sternzellen sowie der intakten Architektur (45).

Eine Lebererkrankung manifestiert sich im Extremfall allein in der Nekrose von Leberparenchymzellen, in intra- oder posthepatischer Cholestase oder aber in Leberatrophie bzw. Fibrose. Häufig handelt es sich jedoch um eine Kombination von Ausfallserscheinungen der verschiedenen Funktionskreise.

Ziel der Diagnostik muß es also sein, nicht nur nachzuweisen, ob eine Beteiligung der Leber am Krankheitsgeschehen vorliegt, sondern gegebenenfalls Art und Ausmaß der Ausfallserscheinungen der einzelnen Funktionen zu erfassen (45).

2.2. Leberdiagnostik

2.2.1. Indikationen für Leberfunktionstests

Als diagnostische Anwendungsgebiete verschiedener Leberfunktionstests können angeführt werden:

Primäre Lebererkrankungen ikterischer oder anikterischer Verlaufsform wie z.B. Verdacht auf Hepatitis contagiosa canis, Leukose, Leptospirose, parasitäre Hepatitiden, verschiedene Formen

akuter und chronischer Hepatitis, Zusammenhangstrennungen nach Lebertrauma, Leberfibrose und -Zirrhose, portosystemische Anastomosen, akute toxische Nekrose, Hämangiom, hepatozelluläres Adenom und Karzinom und intrahepatisches Gallengangsadenom und -Karzinom.

Sekundäre Lebererkrankungen wie infiltrative und degenerative Lipidose, Hyperthyreose, Diabetes mellitus, Cushing Syndrom, Pankreasatrophie oder -Fibrose, chronische passive Leberstauung bei kardialer Dekompensation, Lebermetastasen der unterschiedlichsten Primärtumoren oder aber auch sekundäre Amyloidose.

Differentialdiagnose des Ikterus zur Abklärung der möglichen Ursachen Hämolyse, intrahepatischer Cholestase oder posthepatischer Gallengangsobstruktion.

Anämie unbekannter Genese, z. B. normozytäre, normochrome Anämie bei Vorliegen einer chronischen progressiven Leberfibrose oder Anämie nach Hämorrhagie durch ein Prothrombinderfazit.

Verlaufskontrolle von Hepatopathien, quantitative Erfassung des vorhandenen Leberschadens, Erfolgskontrolle der eingeleiteten Therapie, Prognose, Abschätzung des Residualschadens nach der klinischen Genesung oder auch Ausschluß eines Leberschadens vor einem größeren operativen Eingriff (20, 25).

2.2.2. Klinische Untersuchung

Aufgrund der enormen Kompensations- und Regenerationsfähigkeit der Leber - erst bei Ausfall von $2/3$ - $3/4$ der Parenchymzellen treten deutliche klinische Symptome in Erscheinung (45, 78) - werden Hepatopathien häufig erst im fortgeschrittenen Stadium erkannt. Das klinische Bild ist selten typisch und variiert sehr: Anorexie, Vomitus, Diarrhoe, Aszites, Depression, Polydipsie, Polyurie, Fieber, Kreislaufstörungen, Farbveränderungen von Faeces und Urin, Dermatosen oder auch Leistungsabfall bis hin zur Apathie sowie Krampfanfälle können jeweils einzeln oder in unterschiedlichsten Kombinationen auftreten.

Deutlichere Hinweise auf eine Hepatopathie, auch wenn sie nicht pathognomonisch sind, geben ikterische Schleimhäute, hämorrhagische Diathese und Veränderungen der Größe und Konsistenz oder auch Schmerzhaftigkeit des Organs bei der Palpation.

Die klinische Untersuchung liefert meist nur Anhaltspunkte und muß durch weiterführende Labordiagnostik oder physikalische Untersuchungen (Röntgen, Cholezystographie usw.) ergänzt werden (77, 78).

2.2.3. Enzymaktivitäten

Die verschiedenen Organe sind sowohl in qualitativer als auch in quantitativer Hinsicht unterschiedlich mit Fermenten ausgestattet. Enzyme, die nur oder fast ausschließlich in einem Organ vorkommen und deshalb als organspezifisch bezeichnet werden können, sind selten (84). Zerstörung der Zellen oder auch nur Desintegration der Zellmembran führt zum Enzymaustritt ins Serum. Der daraus resultierende Aktivitätsanstieg stellt hauptsächlich ein Maß für die Anzahl der alterierten Zellen, weniger für den Grad der Zellschädigung dar.

Alanin-Amino-Transferase ALT (früher Glutamat-Pyruvat-Transaminase GPT)

Dieses im Zytoplasma lokalisierte Enzym wird bei Hund, Katze und Primaten als höchst leberspezifisch angesehen (45, 77, 104). Ein starker Enzymaustritt ins Serum ist bereits frühzeitig bei akuter und chronischer aktiver Hepatitis und Hepatozytendegeneration und -Nekrose zu erwarten, weniger deutlich und auch nicht regelmäßig erhöhte Werte finden sich bei Fibrose, Zirrhose, Stauungsleber und posthepatischen portosystemischen Anastomosen. Eine Rückkehr zur Norm z. B. nach vorausgegangener einmaliger Zellnekrose ist nach ca. 1 - 3 Wochen zu erwarten (12,45). Die ALT wird als zweitempfindlichstes Enzym nach der GLDH zur Aufdeckung einer Hepatopathie angesehen (77).

Als Grenzwerte für den Hund werden in der Medizinischen Tierklinik München Aktivitäten bis zu 50 IU/l angenommen (76, 77).

Aspartat-Amino-Transferase AST (früher Glutamat-Oxalacetat-Transaminase GOT)

Die AST ist ein sogenanntes bilokuläres Enzym, d.h., sie kommt sowohl im Zytoplasma als auch in den Mitochondrien vor.

Da das Enzym nicht nur in der Leber, sondern auch in Herz- und Skelettmuskulatur, in geringer Konzentration auch in Niere, Milz und Lymphsystem vorhanden ist, kann es nicht als organspezifisch angesprochen werden (76, 107).

Ihm kommt also in der Diagnostik der Lebererkrankungen speziell beim Hund lediglich eine Hilfsfunktion zu. Ein Anstieg um die Höhe der ALT gibt Hinweise auf Leberzellnekrose, eine solitäre Erhöhung ohne pathologischen Ausfall anderer Leberfunktionsproben spricht beim Hund eher für eine Erkrankung der Herz- oder Skelettmuskulatur.

Referenzbereich beim Hund : Bis zu 40 IU/l (76).

Alkalische Phosphatase AP

Die verschiedenen Isoenzyme der AP stammen aus den Epithelien der Gallengänge und Kanalikuli der Leber, den Osteoblasten des Skelettsystems, den Dünndarmepithelien, der Nieren, der Plazenta, der Lunge und den roten und weißen Blutkörperchen (7, 45, 76).

Die Halbwertszeit der Leber- und Knochenisoenzyme beträgt beim Hund ca. drei Tage (45, 76), die der Darm-, Nieren- und Plazenta-isoenzyme dagegen nur einige Minuten. Da mit einer Aktivitätserhöhung erst zwei bis drei Tage nach Eintreten eines Leberschadens gerechnet werden kann (84), findet man erhöhte Serumwerte vor allem bei intra- und posthepatischen Cholestasen, chronischen raumfordernden Prozessen in der Leber, metabolischen Krankheiten, die Hyperlipidämie und Leberlipidose verursachen (Diabetes mellitus, Hypothyreoidismus, Morbus Cushing oder akuter Pankreatitis) (45), aber auch bei Pyometra und Dermatosen (84).

Während eine akute Leberzellnekrose nur eine geringe Aktivitätssteigerung der AP verursacht (12), erhöhen sich die Serumwerte bei intra- und posthepatischer Cholestase, bei steroidinduzierter He-

patopathie und experimentell hervorgerufenen Vergiftungen z.B. durch Tetrachlorkohlenstoff (30) oder Lithocholsäure (137), auf das Zehnfache und mehr ihres Ausgangswertes (45, 76).

Ursache der Aktivitätserhöhung bei Cholestase ist nicht etwa ein Galleexkretionsdefekt, sondern eine Enzym-Überproduktion durch die Hepatozyten und/oder Kanalikulärzellen (76, 107) infolge cholestatischer Induktion.

Aufgrund der langen Halbwertszeit normalisiert sich die AP nach einem Leberschaden auch später als die "Transaminasen" (84).

Referenzbereich beim Hund: Bis 190 IU/l.

Glutamat-Dehydrogenase GLDH

Die GLDH ist in der Leber in höchster Konzentration in den Mitochondrien lokalisiert. Deshalb tritt dieses Enzym im Blut nur nach schwerer Zellschädigung auf, wie etwa bei Leberzellnekrose nach akuter oder chronischer Hepatitis, Fibrose, akutem Schub bei bestehender Zirrhose, akuter Druckerhöhung in der Vena hepatica (Rechtsherzinsuffizienz) oder Vergiftungen mit hepatotoxischen Substanzen.

Nach neuesten Untersuchungen (77) reagiert dieses Enzym sehr empfindlich auf Hypoxie und intrahepatische Cholestase entsprechend seiner Lokalisation in den zentrolobulären Hepatozyten. Die GLDH kann demnach als das empfindlichste der besprochenen Enzyme (AST, ALT, GLDH, AP, g-GT) angesehen werden, die ALT folgt an zweiter Stelle.

Referenzbereich beim Hund: Bis 6 IU/l.

Gamma-Glutamyl-Transferase (-Transpeptidase) g-GT

Die g-GT wird zwar nicht ausschließlich in der Lebersynthetisiert (hier ist sie in Hepatozytenmembranen und Gallengangsepithelien lokalisiert), doch tritt eine Enzymerhöhung im Serum praktisch nur bei Lebererkrankungen auf, nicht jedoch - im Gegensatz zur AP - bei erhöhter Osteoblastenaktivität, so daß ihre Bestimmung wertvolle Hinweise beim Ausschluß von Knochenerkrankungen liefern kann.

Sie steigt im allgemeinen deutlich über den Grenzwert (beim Hund 6 IU/l) an bei intra- und posthepatischer Cholestase, akuter und chronischer Hepatitis, primären oder sekundären Lebertumoren, Fibrose und Zirrhose, jeweils abhängig vom Grad der Cholestase. Weniger ausgeprägt und unregelmäßiger ist die Aktivitätserhöhung bei akuter und chronischer Pankreatitis, Enteritis, Rechtsherzinsuffizienz, Leukose und Diabetes mellitus.

Da jedoch häufig Normalwerte trotz erhöhten AP-Spiegels und pathologischen Ausfalls anderer Lebertests anzutreffen sind, kann nur ein positiver Befund als aussagekräftig gewertet werden. (75, 107). Referenzbereich: Bis 6 IU/l.

Sorbit-Dehydrogenase SDH

Obwohl sie als leberspezifisch bezeichnet werden kann, wird die SDH bei Kleintieren selten in der Diagnostik angewandt, da sie bei Lebererkrankungen aufgrund ihrer geringen Halbwertszeit nur kurzfristig und inkonstant erhöht ist. Sie liefert im übrigen ähnliche Informationen über Leberzellnekrose wie die ALT.

Referenzbereich beim Hund: 1,0 (- 2,0) IU/l.

Cholinesterase CHE

Vergiftungen mit CHE-blockierenden Insektiziden (z.B. Organophosphate), aber auch schwere Leberzellschädigungen setzen die CHE-Aktivitäten stark herab (76).

Referenzbereich beim Hund: 1500 - 3000 IU/l (76).

(Substrat: Butyryl-thio-cholin)

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß wohl die Bestimmung von GldH, AP und ALT die genauesten Parameter bei der Diagnose von Hepatopathien mittleren und schweren Grades darstellen, AST und g-GT sollten unterstützend eingesetzt werden.

2.2.4. Proteinstoffwechsel

Als Normalwerte für das größtenteils von der Leber synthetisierte Gesamtprotein im Plasma werden 55 - 75 g/l angegeben (5, 19, 75).

Dabei entfallen ca. 30 - 48 g/l auf das Albumin und 13 - 32 g/l auf die Globuline (5). Immer wieder wurde versucht, mit Hilfe der direkten oder indirekten Bestimmung der einzelnen Proteinfractionen Rückschlüsse auf Lebererkrankungen von Mensch und Tier zu ziehen. Albumin weist beim Hund eine Halbwertszeit von 10 (12) bzw. 12 - 18 Tagen (45) auf, und ein Abfall der Plasmakonzentrationen tritt lediglich bei chronischen Leberschädigungen auf, allerdings auch bei anderen chronischen Organkrankheiten. Die α -Globulinkonzentration kann bei viralen und bakteriellen Leberinfektionen sowie bei posthepatischer Cholestase erhöht sein (76). Die diagnostische Aussagekraft der β -Globuline ist gering (76), ein Anstieg tritt bisweilen bei Neoplasien (β_1) oder bei Ikterus und Zirrhose (β_2) auf (45). Die aus dem RES stammenden γ -Globuline sind für die Antikörperaktivität verantwortlich, eine Peakerhöhung im Elektropherogramm kann also bei vielen akuten und chronischen bakteriellen Infektionskrankheiten, u. a. bei Hepatitiden, beobachtet werden, aber ebenso bei diffuser Leberfibrose oder bösartigen Neoplasien wie Plasmazytom und Lymphosarkom (19, 45).

Die Aussagekraft eines Elektropherogramms ist also auch bei Vergleich der Einzelfraktionen und ihrer Relation zum Gesamtproteingehalt in der Diagnose von Hepatopathien nicht besonders hoch (76, 104), da kein spezifisches Eiweißspektrum für Lebererkrankungen des Hundes nachgewiesen werden konnte (63, 83). Das Elektropherogramm hat aber erhebliche Bedeutung in der Erkennung von Folgeerkrankungen einer Leberschädigung.

Wichtige Komponenten des Gerinnungssystems werden in der Leber synthetisiert: Fibrinogen, Prothrombin, für dessen Aufbau Vitamin K essentiell ist, und die Gerinnungsfaktoren I, II, V, IX und X (63, 87). Störungen der Blutgerinnung können auftreten durch verminderte Produktion der einzelnen Komponenten oder vermehrten Verbrauch (Verbrauchskoagulopathie); beides kann bei Lebererkrankungen vorliegen. Die partielle Thromboplastinzeit PTT gibt Aufschluß über die plasmatischen Gerinnungsfaktoren des endogenen Systems. Eine verlängerte PTT kann ihre Ursache haben in Verringerung der Faktoren I, II, V, VIII, IX, X, XI oder XII, Heparintherapie und Dicumaroltherapie bzw. -vergiftung.

Normalwerte beim Hund: bis 45 sec.

Die Kalzium-Thromboplastinzeit (Prothrombinzeit, "Quick-Test") liefert Aussagen über das exogene Gerinnungssystem und damit speziell über die Faktoren I, II, V, VII und X, Vitamin K - Resorptionsstörungen, Verbrauchskoagulopathie, Hyperfibrinolyse oder schwere chronische Hepatopathien.

Normalwerte beim Hund: 7 - 12 sec. (76).

2.2.5. Lipidstoffwechsel

Der Hepatozyt ist der wichtigste Ort für den Abbau und die Oxidation von Fettsäuren, für die Cholesterinsynthese und -veresterung und die Bildung von Gallensäuren aus Cholesterin (119). Vielfach wurde versucht, aus Störungen des Lipidmetabolismus in der Leberzelle, die zu einer Konzentrationsverschiebung der einzelnen Lipidkomponenten im Blut führen, Rückschlüsse auf eine Leberschädigung zu ziehen. Nach B l o o m (5) beträgt die Konzentration von Gesamtcholesterin im Hundeserum 1,4 - 2,1 g/l, wobei die Cholesterinester ca. 60 - 80 % ausmachen. O p i t z (101) gibt die Normalverteilung der Lipidfraktionen bei Hunden über einem Jahr wie folgt an: Gesamtlipide: 6,18 - 12,05 g/l, Phospholipide 2,42 - 5,76 g/l, Neutralfette 0,62 - 3,57 g/l, Gesamtcholesterin 1,43 - 3,50 g/l und freies Cholesterin 0,35 - 0,93 g/l.

Die Bestimmung dieser Parameter ist jedoch in der Leberdiagnostik nur von begrenztem Wert (119), da neben einem Abfallen des Cholesterinspiegels bei schweren chronischen Lebererkrankungen (Zirrhose) oftmals auch ein Anstieg beobachtet wurde, so etwa bei intrahepatischer Cholestase, verursacht durch bestimmte Arzneimittel, Pericholangitis, posthepatischer Gallengangsobstruktion aufgrund von Neoplasien oder bei sekundären Hepatopathien im Zusammenhang mit Diabetes mellitus, Hyperadrenokortizismus, Hypothyreoidismus und nephrotischem Syndrom (12, 119).

Als Ursache für die hohen Konzentrationen freien Cholesterins bei Cholestase wird das sog. Lipoprotein X (LP-X) angesehen, ein Low Density Lipoprotein (spezifisches Gewicht 1,035 - 1,063 g/l), das normalerweise von der Leber in die Galle ausgeschieden wird, bei Cholestase aber ins Plasma regurgitiert wird (26, 35, 119, 122). O p i t z (101) wies bei Hunden mit einem spontanem Diabetes mel-

litus eine sekundäre Hyperlipidämie nach mit Gesamtlipidwerten bis zu 56,48 g/l und einer Gesamtcholesterinkonzentration bis zu 10,93 g/l. Sie betont den Wert einer gezielten Neutralfettanalyse zur Frühdiagnose und Verlaufskontrolle beim Diabetes mellitus des Hundes. Zunehmende Bedeutung in der Leberfunktionsdiagnostik scheint allerdings die Bestimmung der Serumgallensäuren (SGS) zu gewinnen (57, 76, 104, 119). Sie werden in den Hepatozyten aus Cholesterin gebildet und über die Gallenkanalikuli in die Galle ausgeschieden und gelangen so in den Darm. Dort sind sie für die Digestion und Absorption von Lipiden essentiell. Ein kleiner Teil von ihnen wird mit den Faeces ausgeschieden (Lithocholsäure), ein größerer jedoch resorbiert (Desoxycholsäure), und gelangt, an Transportprotein gebunden, zur Leber und wirkt dort als Choleretikum. Nach fettreicher Nahrung steigen die Gallensäurewerte innerhalb von 2 - 4 Stunden auf das Doppelte.

Normalwerte beim Hund: 20 $\mu\text{mol/l}$, verdächtig: 20 - 50 $\mu\text{mol/l}$, sicher krankhaft: 50 $\mu\text{mol/l}$.

Ein Anstieg ist zu erwarten bei intrahepatischer Cholestase, akuter und chronischer Hepatitis, Nekrose und Cholestase auslösenden Hepatotoxinen, posthepatischer Cholestase und portosystemischen Anastomosen (76). Die gute Korrelation zwischen erhöhten Gallensäurekonzentrationen im Serum und dem Grad der Leberschädigung wird von mehreren Autoren betont (15, 58, 104, 128).

2.2.6. Kohlehydratstoffwechsel

Die Aufgaben der Leber im Kohlehydratstoffwechsel sind Glykogenese bei Kohlehydratüberschuß, d. h. Aufnahme von Glukose aus dem Blut und Synthese der Speicherform Glykogen, Glykogenolyse bei Kohlehydratmangel, d. h. Mobilisierung der Glykogendepots und Abbau zu verwertbarer Glukose, und Glukoneogenese, d. h. de novo Synthese von Glukose aus Aminosäuren und Fettsäuren (63).

Die Überprüfung eines intakten Kohlehydratstoffwechsels der Leber ist mit Schwierigkeiten verbunden, zumal die Regulation extrahepatisch durch Hormone stattfindet.

Der in der Humanmedizin eingeführte Galaktosetoleranztest (66, 68, 102) erwies sich beim Hund als ungeeignet für die Aufdeckung

eines Leberschadens, da die Kontrollwerte von Hund zu Hund sehr stark variieren und diese Probe selbst unter standardisierten Bedingungen wesentlich unempfindlicher und unregelmäßiger reagiert als andere Leberfunktionstests (30, 47, 63, 129).

2.2.7. Ammoniak und Ammoniaktoleranztest

Bei schweren Hepatopathien und besonders bei portosystemischen Shunts kann die Entgiftung von Ammoniak zu Harnstoff nur unvollständig stattfinden, ein Anstieg des Ammoniak im Blut ist die Folge. Das sog. hepatoenzepale Syndrom resultiert aus einem solchen Ausfall der Entgiftungsfunktion, da der neurotoxische Ammoniak und aromatische Aminosäuren zentralnervöse Symptome verursachen (Verhaltensänderung, Somnolenz, Apathie, Erbrechen, epileptiforme Anfälle). Endstadium dieser Erkrankung kann das Leberkoma sein.

Normalwerte im Nüchternserum des Hundes: Bis $120 \mu\text{g/dl}$ (12, 45, 76).

Im Ammoniaktoleranztest wird die Fähigkeit der Leber überprüft, mit der Magensonde zugeführtes Ammoniumchlorid (100 mg/kg KGW, maximal 3 g) zu entgiften. Blutammoniak wird vor und genau 30 min nach der Applikation bestimmt.

Normalwerte: Keine oder nur geringfügige Erhöhung über $120 \mu\text{g/l}$ (47, 76, 129).

Der Test sollte nach Auftreten von zentralnervösen Störungen unbekannter Genese und ansonsten negativ verlaufenen Leberfunktionstests eingesetzt werden, um abzuklären, ob portosystemische Anastomosen die Ursache sein könnten (119, 129).

2.2.8. Bilirubinmetabolismus

Bilirubin wird größtenteils durch den Abbau überalterter Erythrozyten im RES gebildet, nur ca. 10 - 20 % stammen aus anderen Quellen (12, 63). Es wird an Serumalbumin gebunden zur Leber transportiert (Synonyma: Prähepatisches, wasserunlösliches, unkonjugiertes, primäres, indirektes Bilirubin, Bilirubin I) (45, 63,

76, 119). Bei der Aufnahme in die Leberzelle wird das Albumin abgetrennt und das Bilirubin an ein spezielles Transportprotein gebunden. Das Enzym Glukuronyl-Transferase katalysiert die Konjugation mit Glukuronsäure, wodurch die Verbindung wasserlöslich wird (Synonyma: Konjugiertes, sekundäres, direktes Bilirubin, Bilirubin II). (45, 63, 76, 119).

Nach kanalikulärer Sekretion gelangt Bilirubin II via Galle in den Darm, wo es durch Bakterien zu Urobilinogen (Sterkobilinogen) reduziert wird. Ein größerer Teil davon wird oxidiert und mit den Faeces als Urobilin (Sterkobilin), ein kleinerer reabsorbiert und über die Galle oder auch die Niere als Urobilinogen ausgeschieden. Die Nierenschwelle für nicht konjugiertes Bilirubin ist hoch, die Hundeniere kann jedoch kleine Mengen von Bilirubin aus filtriertem Hämoglobin bilden und in den Tubuluszellen auch mit Glukuronsäure konjugieren, so daß auch beim gesunden Hund Spuren von primärem Bilirubin im Urin erscheinen (45). Die Nierenschwelle für Bilirubin II ist beim Hund jedoch sehr niedrig, so daß auch ohne Hyperbilirubinämie eine Bilirubinurie vorliegen kann.

Normalwerte für Gesamtbilirubin im Serum: Bis 0,2 mg/dl (76).

Störungen im Bilirubinmetabolismus äußern sich klinisch als Ikterus. Der Stoffwechsel kann in fünf Stadien gestört sein:

1. Erhöhte Mengen von Hämoglobin oder hämoglobinähnlichen Substanzen gelangen zur Leber. Ursache dafür ist meist Hämolyse, selten auch Überproduktion im Knochenmark. Beim hämolytischen Ikterus akkumuliert Bilirubin I im Serum, sein Anteil am Gesamtbilirubin beträgt dann mehr als 60 %. Da es wasserunlöslich ist, kann es nicht glomerulär filtriert werden. Dafür wird - bei intakter Leberfunktion - verstärkt Bilirubin konjugiert und in die Galle sezerniert. Ansteigende Urobilinogenkonzentrationen im Darm führen nach Resorption auch zu hohen Urobilinogenwerten im Urin (45, 63).

2. Aufnahme in die Zelle und intrazellulärer Transport sind gestört.

3. Die Fähigkeit zur Konjugation ist reduziert.

4. Die Exkretion auf kanalikulärer Seite ist beeinträchtigt.

In den Fällen 2. - 4. ist die Leberzelle selbst geschädigt: Hepatozellulärer Ikterus. Den limitierenden Schritt stellen nicht die Aufnahme von Bilirubin in die Zelle oder die Konjugation dar,

sondern der Transport des Diglukuronids zu den Gallenkanalikuli. Somit wird konjugiertes Bilirubin in die Blutbahn regurgitiert und zum Teil intravasal wieder dekonjugiert. Resultat ist der in etwa gleichem Maße erfolgende Anstieg von konjugiertem und nicht konjugiertem Bilirubin im Serum. Wasserlösliches Bilirubin II erscheint jetzt auch vermehrt im Urin (45, 63).

Ein kongenitaler Defekt allein des Aufnahmemechanismus' von Bilirubin in die Leberzelle wurde bei Southdown-Schafen beobachtet, beim Menschen ist diese Störung auf bestimmte Viruserkrankungen oder einen chemisch hervorgerufenen Leberschaden zurückzuführen. Speziell der Konjugationsprozeß wird durch Toxine supprimiert, ist kongenital nicht vorhanden wie bei der Gunn - Ratte oder ist verhältnismäßig unterentwickelt bei Jungtieren (63).

5. Der Gallefluß ist durch Obstruktion der Gallenwege partiell oder total behindert: Verschlußikterus, posthepatischer Ikterus. Zunächst wird Bilirubin in die Leber zurückgestaut und durch Blockade der Sekretion steigt der Anteil von Bilirubin II im Serum (über 60 %). Im späteren Stadium wird durch die hohen Bilirubin-Diglukuronid-Konzentrationen das Glukuronyltransferasesystem supprimiert und es kommt auch zum Anstieg von Bilirubin I. Beim totalen Verschluß der Gallenwege gelangt kein Bilirubin in den Darm und folglich auch kein Urobilinogen in den Urin (pathognostisch !), während Bilirubin dort in erhöhter Konzentration nachzuweisen ist. Die Faeces sind dabei fahl und "acholisch" (45, 63, 76, 142).

Allerdings muß abschließend erwähnt werden, daß die Aussagekraft des Bilirubins als Indikator, insbesondere als Screening - Methode, für eine Lebererkrankung beim Hund ihre Grenzen hat und zwar aus folgenden Gründen:

- a) Häufig korrelieren die ermittelten Bilirubinkonzentrationen nicht mit dem Grad der Leberschädigung (2).
- b) Da die Nierenschwelle für unkonjugiertes Bilirubin beim Hund relativ niedrig ist, erscheinen geringe Bilirubinerhöhungen nur dann im Serum, wenn zusätzlich eine Ausscheidungsstörung der Nieren vorliegt (32, 76).

- c) Die Konjugation von Bilirubin I findet nicht ausschließlich in der Leber statt, sondern auch, allerdings in geringerem Umfang, in Niere und Darm (2).

2.2.9. Leberbiopsie, Histologie

Die intravitale Gewinnung von Lebergewebe mittels Biopsie kann durch ungezielte ("blinde") Leberpunktion oder durch Laparoskopie und gezielte Leberpunktion unter Sicht erfolgen.

Indikation, technische Durchführung sowie mögliche Komplikationen sind ausführlich in der Literatur beschrieben (51, 75, 104).

Die Blindpunktion ist aussagekräftig bei allen diffusen Leberveränderungen, da hier ein repräsentativer Gewebszylinder entnommen werden kann, nicht jedoch bei Vorliegen herdförmiger Prozesse; ein negativer Befund schließt also eine Hepatopathie nicht mit Sicherheit aus.

Mittels Laparoskopie und gezielter Leberbiopsie dagegen kann eine Beurteilung der Leberoberfläche bezüglich Farbe, Lappchenzeichnung, Knoten- und Narbenbildung, Einziehungen und Körnung vorgenommen werden (78). Ein weiterer Vorteil ist die gezielte Probeentnahme von augenscheinlich lokal begrenzt veränderten Leberbezirken. Allerdings muß bei dieser Methode die Belastung des Organismus durch die dazu notwendige Sedation in Betracht gezogen werden (75).

Die histologische Untersuchung soll eine Aussage über Leberarchitektur, Menge und Verteilung des Bindegewebes, Aktivierung des RES, Stärke und Verteilung der mesenchymalen Infiltration, der Gallenwege und Gefäße, Schädigungsgrad und -form der Parenchymzellen und Speicherung von Substanzen beinhalten (75).

Sie darf jedoch nicht überbewertet werden, da sie zwar Art, Ausdehnung und Intensität von morphologischen Zellschäden aufzeigt, andererseits aber nur ein Momentbild des Krankheitsablaufes vermittelt und außerdem eine Beurteilung der Funktionsstörung der Leber nur bedingt zuläßt. Folglich sollte sie zwar als eine wertvolle Ergänzung zu funktionsdiagnostischen Untersuchungsverfahren eingesetzt werden, nicht jedoch als deren Ersatz (75).

2.2.10. Farbstoffeliminationsproben

Bestimmte, exogen zugeführte, Farbstoffe werden ausschließlich oder vorwiegend über die Leber ausgeschieden. Die wichtigsten unter ihnen sind Bromsulphthalein, Indocyaningrün und Bengalrosa. Die Farbstoffe werden in gelöster Form intravenös injiziert und die Geschwindigkeit ihres Konzentrationsabfalles in Serum oder Plasma als Maßstab der Leberleistung bestimmt.

Wichtige Bedingungen für die Eignung als Testfarbstoff sind:

- ausschließliche Aufnahme und Ausscheidung des Farbstoffs über die Leber;
- exponentieller Konzentrationsabfall im Blut;
- kein enterohepatischer Kreislauf und keine lymphatische Reabsorption;
- gute systemische und lokale Verträglichkeit (6, 34, 65)

Die verschiedenen Farbstoffe besitzen diese Eigenschaften in unterschiedlichem Maße, besonders BSP und ICG eignen sich hervorragend zur Leberfunktionsprüfung beim Hund (6, 76), während Bengalrosa (Tetrachlor - Tetraiod - Fluoreszin) weniger gebräuchlich ist (20, 56).

Indocyaningrün ist ein wasserlöslicher Tricarbocyaninfarbstoff, der sich unter dem Namen Cardiogreen^R oder Wofaverdin^R im Handel befindet (31, 40). Der Farbstoff wird nahezu ausschließlich von der Leberzelle aufgenommen und ohne chemischen Umbau in die Gallenflüssigkeit sezerniert (4, 6). Seine Konzentration mißt man photometrisch im Plasma bei 805 nm. Als Parameter der Leberleistung wird die Clearance des Farbstoffes oder verwandte Größen wie "fractional clearance" oder Clearance - Koeffizient K, die der Steigung der Eliminationsgeraden entsprechen, aus drei Blutproben während der ersten 15 Minuten nach Farbstoffinjektion bestimmt (6, 34, 68). Der Grenzwert für K kann beim Hund als 0,060/min angenommen werden (W a r m b i e r, 1984) (132). ICG ist sehr gut verträglich und ruft weder lokale noch systemische Unverträglichkeitserscheinungen hervor. Zusätzlich kann das Plasmavolumen des Patienten zuverlässig mit ICG ermittelt werden.

ICG ist zum Farbstofftest für die Leberfunktionsprüfung beim Hund gut geeignet (6, 132), konnte sich jedoch in der Veterinärmedizin aufgrund seines relativ hohen Preises und der Notwendigkeit, im Infrarotbereich messen zu müssen, bisher nicht durchsetzen.

2.3. Bromsulphthalein (BSP)

Der Bromsulphthaleintest (BSP - Test) gehört zu den chromodiagnostischen Funktionsproben, mit deren Hilfe vor allem die Sekretionsleistung der Leber untersucht werden kann (91, 92).

2.3.1. Geschichtliche Entwicklung

Die ersten Versuche auf dem Gebiet der Chromodiagnostik wurden in der Humanmedizin unternommen. A b e l l und R o w n t r e e fanden 1909, daß subkutan appliziertes Phenoltetrachlorphthalein fast ausschließlich durch die Galle eliminiert wird.

R o w n t r e e et al. beschrieben 1913 die Bestimmung des Farbstoffes im Kot, M c N e i l im Duodenalsaft. Eine wesentliche Verbesserung und Vereinfachung erreichte R o s e t h a l 1922 mit der Bestimmung der Farbstoffretention im Blut; 15 Minuten nach intravenöser Injektion konnte er beim gesunden Hund nur noch Spuren des Farbstoffes im Serum nachweisen (zitiert nach M i e l k e, 91).

1925 führten dann R o s e n t h a l und W h i t e das Phenoltetrabromphthalein (BSP) in die Leberdiagnostik beim Menschen ein (117, 118). BSP wird schneller eliminiert als Phenoltetrachlorphthalein, erreicht höhere Anfangskonzentrationen und zeigt weniger unerwünschte Nebenwirkungen (Thrombose und andere Reaktionen). Die Dosis wurde auf 2 mg/kg KGW festgelegt (124). O' L e a r y (1929) und M c D o n a l d (1939) erzielten mit der heute allgemein gebräuchlichen Dosis von 5 mg/kg KGW bessere Resultate. 1945 gelang G a e b l e r eine weitere Präzisierung der Testauswertung durch Messung der Farbstoffintensität mit einem elektrischen Spektrophotometer (43). Bis dahin wurde mit einem sog. Komparator lediglich ein visueller Vergleich der Farbintensität

der Probe mit Lösungen bekannter Konzentrationen angestellt. Die bisher letzte Modifikation des BSP - Tests beschrieb Z i m m e r 1955 in seiner Dissertation (142): Beim sog. Zweifarbstofftest applizierte er unabhängig vom KGW die Einheitsdosis von 300 mg BSP und 100 mg Trypanrot beim Menschen. Mit Hilfe des Farbstoffes Trypanrot (TR), der wesentlich langsamer als BSP ausgeschieden wird und dessen Blutspiegel während der Testdauer praktisch konstant bleibt, errechnete er die Anfangskonzentration von BSP. Durch eine weitere Probeentnahme bestimmte er Eliminationskonstante k und Halbwertszeit $T_{1/2}$ für BSP.

In der Veterinärmedizin fand BSP erst relativ spät Eingang in die Diagnostik von Lebererkrankungen. An dieser Stelle soll die große Bedeutung des Hundes bei der Entwicklung und Fundierung des Tests hervorgehoben werden; die meisten grundlegenden Versuche wurden bei dieser Tierart durchgeführt.

1950 setzten H o e r l e i n und G r e e n BSP erstmals in der klinisch - diagnostischen Anwendung in der Veterinärmedizin ein (64). Sie injizierten 5 mg/kg KGW und bestimmten im Komparator den Farbstoffgehalt im Blut 30 min p.i. Bei gesunden Hunden konnten sie nach dieser Zeit kein BSP mehr nachweisen. Sie betonten den Wert des Tests in der frühzeitigen Diagnose hepatischer Dysfunktion ohne bestehende Bilirubinämie und seine Aussagekraft für die Stellung einer Prognose.

G r e m m e l kam in seiner Dissertation 1951 bei der Untersuchung von 64 Hunden zu dem Schluß, daß eine Retention von maximal 5 % des applizierten BSP nach 45 min den Grenzwert für ein normales Ergebnis der Probe darstellt (49). Er benutzte dabei ein Pulfrich-Photometer.

In der Folgezeit wurden von zahlreichen Autoren Untersuchungen an gesunden Hunden, solchen mit spontanen oder durch hepatotoxische Substanzen experimentell hervorgerufenen Hepatopathien durchgeführt (19, 32, 47, 62, 81, 85, 91, 92, 97).

Heute gilt als Grenzwert 5 % Retention nach 30 min (76).

M i e l k e änderte 1959 den Zweifarbstofftest (ZFT) nach Zimmer in geeigneter Weise für den Hund ab; auf diese Arbeit wird noch genauer einzugehen sein (s.u. ZFT) (91).

Der BSP - Test ist auch für Rind (13, 14, 16, 23, 41, 44, 95, 98, 114, 115, 139), Pferd (1, 3, 21, 24, 98), Schaf (21, 22, 39, 50, 80, 130), Ziege (124) und Schwein (21, 38, 44, 106, 116) eingehend beschrieben worden.

Der ZFT lieferte beim Schwein nach K r o l l (79) keine zufriedenstellenden Ergebnisse, da die exponentiell verlaufende Ausscheidungsphase bei dieser Tierart sehr kurz ist und deshalb kein absolut gültiger Zeitpunkt für die 2. Probeentnahme zur Festlegung der Eliminationsgeraden gewonnen werden kann.

2.3.2. Physikalisch - chemische Eigenschaften

BSP ist ein organisches Anion und gehört zur Gruppe der Phthalein-farbstoffe (68). Es ist leicht wasserlöslich, allerdings nähert sich eine 5-prozentige wäßrige Lösung - in dieser Konzentration wird BSP vom Hersteller angeboten - der Lösungsgrenze, so daß der Farbstoff bei niederen Temperaturen auskristallisieren kann. Deshalb sollte BSP nicht im Kühlschrank aufbewahrt werden; außerdem wird vor der Injektion eine Anwärmung empfohlen (91).

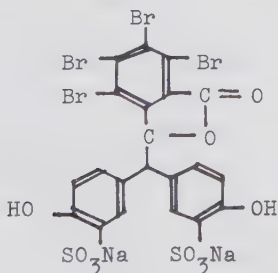


Abb. 1: Strukturformel von Phenol - Tetrabrom - Phthalein (Bromsulphthalein, BSP); Molekulargewicht 838,05 (91).

Im sauren und neutralen Milieu ist BSP farblos, nach Alkalisierung nimmt es eine rotviolette Farbe an. Im Bereich niedriger Konzentrationen gilt für die alkalische Lösung das Lambert-Beer'sche Gesetz, das Absorptionsmaximum bei photometrischen Messungen liegt bei 580 nm. Der pH - Wert einer 5-prozentigen Lösung beträgt 6,0 - 6,5.

2.3.3. Mechanismus der Extraktion durch die Leber

Die Geschwindigkeit, mit der intravenös injiziertes BSP durch die Leber aus dem Blut eliminiert wird, kann als ein Maß für die Extraktions- und Konjugationsfähigkeit der Leber angesehen werden. Die Elimination vollzieht sich in drei Schritten:

Transport im Plasma zur Leber, Bindung an die zytoplasmatischen Proteine Y (Ligandin) und Z und Konjugation mit Glutathion im Hepatozyten, und schließlich Sekretion dieses Konjugats in die Galle und damit in den Darm (129).

BSP wird im Plasma an Lipoproteine gebunden transportiert. Im Gegensatz zu früheren Annahmen (8, 45, 107) ist es nicht ausschließlich an Albumin gebunden, sondern zu einem nicht unerheblichen Teil auch an Globuline und hier hauptsächlich an die α_1 -Lipoproteinfraktion (68, 69, 70, 100). Die niedrige Konzentration von α_1 -Lipoprotein im Plasma und sein hohes Molekulargewicht im Vergleich zum Albumin legen die Vermutung nahe, daß es eine höhere Bindungskapazität für BSP aufweist als Albumin.

Die Bindungsverteilung von BSP an Plasmaproteine ist, ganz im Gegensatz zu ICG, weitgehend unabhängig von seiner Konzentration im Plasma und dem Vorliegen einer Lebererkrankung, d.h., daß bei Verminderung der Albuminfraktion, die besonders viel BSP bindet, der Farbstoff nur in geringem Maße ersatzweise an andere Proteine gebunden wird und damit in freier Form vorliegend, schneller ausgeschieden werden kann. So sind auch die falsch negativen BSP-Tests trotz Lebererkrankung bei Vorliegen einer Hypalbuminämie aufgrund von Nierenerkrankungen zu verstehen (70).

Nach Eintritt des proteingebundenen BSP in den Disse'schen Raum erfolgt die rasche Akkumulation des Farbstoffs in den Hepatozy-

ten (69). Der Aufnahmemechanismus für BSP in die Leberzelle ist komplex und bisher noch wenig bekannt. Eine Beteiligung der Kupfferschen Sternzellen an der Farbstoffaufnahme, wie von einigen Autoren vermutet (59, 94), konnte eindeutig ausgeschlossen werden (9, 68, 90, 105, 107, 109, 112).

Es gibt verschiedene Theorien für den Transfer des BSP vom Plasma in die Leberzelle (72, 86). Die meisten gehen davon aus, daß es zunächst zu einer Dissoziation des BSP vom Plasmaprotein kommt. Der anschließende Transport in die Leberzelle geschieht nun durch nichtionische Diffusion des freien Anions durch die Zellmembran und die Bindung an die zytoplasmatischen Proteine Y und Z, wobei das Z - Protein möglicherweise anionenspezifisch ist.

Die beiden durch Gelfiltration auftrennbaren zytoplasmatischen Proteine Y und Z binden Bilirubin, BSP, ICG und andere organische Anionen (86). Y (Ligandin) besitzt eine höhere Affinität zu BSP als das Z-Protein, allerdings soll ein Transfer von Ligandin zu Z und umgekehrt nicht ausgeschlossen sein.

Der Übergang von BSP in die Leberzelle könnte jedoch auch durch Carrier - vermittelte, erleichterte Diffusion erfolgen, wobei die Spezifität für die Aufnahme von organischen Anionen in der Zellwand lokalisiert ist. Möglicherweise haben Zellularproteine an der Oberfläche der Lebersinusoidalmembran eine höhere Affinität zu BSP als die zirkulierenden Plasmaproteine (69).

In diesem Falle würden die zytoplasmatischen Proteine lediglich als unspezifische Anionenbinder fungieren, ähnlich dem Albumin im Plasma (86).

In verschiedenen Versuchen wurden mögliche Hemmungsmechanismen der Aufnahme organischer Anionen in die Leberzelle und Wechselwirkungen von Arzneimitteln mit Bilirubin- und Farbstoffelimination untersucht:

Rifamycin verursachte bei Ratten ein hohes Unvermögen, BSP in vivo aufzunehmen, aber verdrängte in vitro BSP nicht von seiner Bindung an das Y- oder Z-Protein. Kenwright und Levi (72) nahmen deshalb an, daß der Aufnahmedefekt unmöglich durch kompetitive Hemmung der Proteinbindung zustandekommen konnte.

Nach Rifamycingabe stieg auch das Serumbilirubin an, während die Gehalte dieses Pigments in der Leber, auch am Y- und Z-Protein zurückgingen. Die Autoren schlossen daraus auf eine Blockade für Bilirubin und BSP auf dem Niveau der Zellmembran (72).

1975 untersuchten Y e a r y und W i s e (141) die Wechselwirkungen zwischen Bilirubin und BSP bzw. ICG. Als Modelltiere dienten ihnen Gunn - Ratten mit bzw. ohne angeborene Hyperbilirubinämie. Beide Versuchsgruppen unterschieden sich nicht in der Eliminationsfähigkeit für BSP und ICG. Alle drei Substanzen, Bilirubin, BSP und ICG werden zwar im Hepatozyten an Ligandin gebunden, aber offensichtlich nicht an den gleichen Bindungsstellen. Auch konnte im Gegenversuch kein Effekt von BSP und ICG auf die Bilirubinelimination festgestellt werden.

Eine Vorbehandlung mit i.v. verabreichtem Bilirubin beeinflusste die BSP- bzw. ICG-Elimination nicht, wohl aber eine simultane Injektion, woraus die Autoren schlossen, daß die Interferenz zwischen Bilirubin und BSP bzw. ICG an der Zellmembran stattfinden muß.

Auch für ICG, Novobiocin und Probenecid wurde eine Konkurrenz mit BSP an der Zellmembran vermutet (86).

Die bei mutierten Southdown - Schafen beobachtete kongenitale BSP- und ICG - Ausscheidungshemmung soll nach L e v i et al. (72, 86) eher auf einen Defekt an der Plasmamembran zurückzuführen sein, als auf eine Störung bei der Bindung an zytoplasmatische Akzeptorproteine.

Flavaspidic acid, Bunamiodyl und Idiopamid dagegen konkurrieren mit BSP um die Bindung an das Z-Protein (nicht an Ligandin!) (72, 86).

Nach der Aufnahme von BSP in die Leberzelle und der Bindung an Y- und Z-Protein kommt es durch Katalysation der zytoplasmatischen S-aryl-Glutathion-Transferase zur Konjugation mit Glutathion über eine Thioätherverbindung (BSP - GSH) (68, 69). Es konnten auch Konjugate mit Cystein, Cysteinylglycin, Cysteinylglutamat und Diglutathion nachgewiesen werden (68). Wahrscheinlich sind diese Konjugate Metaboliten von BSP - GSH, da sie bei Cholestase ver-

mehrt anzutreffen sind; man vermutet, daß BSP - GSH im Gallengangssystem hydrolysiert werden kann (68).

Die Konjugation ist allerdings nicht essentiell für die BSP-Sekretion in die Galle (133), jedoch könnte sie bewirken, daß der Fluß durch die Leberzellmembran erleichtert oder unidirektional gemacht wird, da die Affinität des Serumalbumins für BSP mindestens 100 mal größer ist als für BSP - GSH (68).

Nach Clarkson und Richards (17) kann konjugiertes BSP vom Leberparenchym zurück ins Plasma gelangen und später erneut von den Hepatozyten aufgenommen werden, allerdings weniger schnell als BSP selbst.

Whelan und Combès (135) stellten bei Meerschweinchen und Ratten fest, daß unkonjugiertes BSP kompetitiv und depressiv auf den Transport von BSP - GSH in die Galle wirkt, und daß die Konjugation nicht den limitierenden Schritt in der Ausscheidung von unkonjugiertem BSP darstellt.

Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der BSP - Elimination ist die biliäre Sekretion (69, 133, 134, 138). Bei kontinuierlicher Infusion von BSP bewegt sich die Konzentration im Leberparenchym auf ein Gleichgewicht zu, wobei die Menge gespeicherten Farbstoffs proportional zur Plasmakonzentration ist (134). Die Hundeleber ist in der Lage, BSP mindestens auf das 10-fache der Plasmawerte zu konzentrieren (133). Dieses Phänomen wurde als "relative Speicherkapazität S" bezeichnet ($S = \text{mg gespeichertes BSP pro mg BSP in 100 ml Plasma}$). Wheeler, Epstein, Robinson und Snell (134) fanden beim Hund im Gegensatz zu früheren Untersuchungen (105, 138) keine Anhaltspunkte für eine Sättigung dieses Speicherkompartiments. Die Speicherung von Farbstoff in der Leberzelle ist unabhängig von der Sekretion in die Galle (107, 133).

Da die Aufnahmekapazität größer ist als die Sekretionskapazität, akkumuliert BSP bei Infusion hoher Dosen in der Leber, d.h. es wird ein sog. Transportmaximum T_m erreicht (68, 69).

T_m ist ein Maß für die Sekretionsleistung der Leberparenchymzellen (Angabe in $\mu\text{g/min/kg}$). Wheeler, Meltzer und

B r a d l e y (133) fanden allerdings beträchtliche Variationen von Tm bei ein und demselben Tier und machten hierfür biologische Faktoren verantwortlich, die sie aber nicht näher charakterisierten.

2.3.4. Gewebeverteilung und extrahepatische Ausscheidung

B r a u e r, P e s o t t i und K r e b s (9) untersuchten mittels kontinuierlicher Infusion von ^{35}S - markiertem BSP die Gewebeverteilung des Farbstoffs beim Hund. Sie fanden, daß BSP nicht nur von den Leberzellen, sondern auch in der Niere, im oberen Verdauungstrakt, Fettgewebe und zu einem geringen Anteil in Skelett und Haut aufgenommen und gespeichert wird. Die Skelettmuskulatur stellt aufgrund ihres hohen Anteils am Körpergewicht den wichtigsten extrahepatischen Speicherort für BSP dar.

Die Verteilung von ^{35}S - BSP nach kontinuierlicher Infusion bei vier Hunden ist in folgender Tabelle zusammengefaßt (9):

Tab. 1: Verteilung von ^{35}S - BSP im Körper des Hundes nach kontinuierlicher Infusion

	% der infundierten Menge
Galle	56,8 - 66,1
Leber	20,0 - 25,3
Skelettmuskulatur	3,0 - 10,0
Fettgewebe	2,9 - 3,9
Magen	0,1 - 3,2
Dünndarm	1,1 - 2,9
Plasma	0,6 - 1,7
Nieren	0,3 - 1,2
Urin	< 0,8
Herz	0,2 - 0,6
Dickdarm	0,2 - 0,5
Lunge	< 0,3
Pankreas	< 0,2
Blase, Darminhalt, Milz	< 0,1
Gehirn, Nebenniere	0,0

Eine experimentelle Leberschädigung mit Tetrachlorkohlenstoff veränderte das extrahepatische Verteilungsmuster nur sehr wenig, allerdings wurde proportional mehr BSP außerhalb der Leber angetroffen, da Speicherung, Konzentrierung und Elimination stark durch Hepatozytenschädigung beeinträchtigt waren. Die gleichen Autoren fanden, daß beim Hund maximal 1,5 % des injizierten BSP's über die Niere ausgeschieden wurde.

C o h n et al. (18) kamen in ihren Studien bei gesunden Hunden, Hunden mit Gallengangsligatur, eviszerierten, hepatektomierten und nephrektomierten Hunden zu dem Schluß, daß extrahepatische Gewebe BSP aus dem Blut mit konstanter Geschwindigkeit eliminierten. Sie konnten allerdings nicht klären, ob der Farbstoff nur gespeichert oder auch abgebaut wurde.

Kontinuierliche Infusion bei Ratten zeigte, daß 70-85 % innerhalb von 6 Stunden in der Galle wiedergefunden werden konnten und nur sehr wenig über die Nieren ausgeschieden wurde (unter 0,5 %) (73). Nach Verlassen anderer Gewebe (Niere, Milz, Lunge, Duodenum, Muskulatur, usw.) gelangt BSP letztendlich über die Leber in die Galle. Da aber die Verteilung im Körper nicht auf das Plasma- und Leber - Kompartiment beschränkt ist, lehnen die Autoren die Messung der Kapazität des Leberspeichers nach W h e e l e r und M e l t z e r als ungenau ab.

Extrahepatische Mechanismen und zeitweilige Speicherung in anderen Geweben beeinflussen nach P e t z o l d und K e s s e l (105) dennoch nicht die Brauchbarkeit des BSP - Tests, da ja schließlich doch die Leber die höchste Ausscheidungskapazität für diesen Farbstoff besitzt. Die Cohn'schen Experimente sind nach diesen Autoren unter ungünstigen und unphysiologischen Bedingungen durchgeführt worden und lassen deshalb keine Rückschlüsse auf die Verhältnisse am intakten Tier zu.

Die Ausscheidung von BSP über die Niere ist bei gesunden Hunden sehr gering. Es können zwar regelmäßig kleine Mengen (bis 2 %) nachgewiesen werden (36, 50, 67, 110, 112), der extrahepatische Verlust nach der üblichen Dosis von 5 mg/kg KGW ist jedoch vernachlässigbar (112). Obwohl bei schweren Lebererkrankungen, ins-

besondere in Verbindung mit Cholestase, mehr als 10 % des verabreichten Farbstoffs über den Harn ausgeschieden wird, ist der Wert der zu diagnostischen Zwecken vorgenommenen BSP - Proben und Clearance - Verfahren dadurch nicht beeinträchtigt, weil die Ausscheidung über die Niere erst relativ spät einsetzt (36), zu einem Zeitpunkt, wo die Blutprobenentnahmen meist bereits abgeschlossen sind.

Die Niere ist nach H a n u s c h (55) nicht als vikariierendes Ausscheidungsorgan für BSP anzusehen, auch kann der Anteil des über die Niere ausgeschiedenen BSP nicht zur Diagnostik herangezogen werden (55).

2.3.5. Enterohepatischer Kreislauf (EHK)

Über das Vorliegen eines EHK von BSP gibt es in der Literatur sehr unterschiedliche Meinungen.

L o r b e r und S h a y (88) und L o r b e r, O p p e n - h e i m e r, S h a y, L y n c h und S i p l a t (87) fanden nach intraduodenaler Instillation von 2 bzw. 5 mg BSP/kg KGW beim Menschen und 50 mg/kg KGW beim Hund kleine Mengen des Farbstoffes im Blut wieder. Während der ersten 15 Minuten nach Applikation konnten sie nur sehr wenig oder kein BSP im Serum nachweisen, allerdings stiegen die Konzentrationen anschließend während der nächsten 30 Minuten deutlich an. Aus der Tatsache, daß BSP in der Portalvene in höherer Konzentration vorlag als in der V. hepatica und in den peripheren Arterien, schlossen sie, daß der Farbstoff nach Passage der Leber in den allgemeinen Kreislauf gelangte und - aufgrund des sehr langsamen Lymphflusses - nicht über den Lymphweg reabsorbiert worden sein konnte.

Die Autoren schlagen beim Menschen eine Dosis von 2 mg/kg KGW und eine Probeentnahme bereits nach 30 Minuten vor, um den Einfluß eines möglichen EHK auf das Testergebnis möglichst gering zu halten.

P r a t t, B u r d i c k und H o l m e s (110) wiesen beim Hund ebenfalls eine geringgradige intestinale Reabsorption von BSP über den Blut- oder Lymphweg nach, glaubten aber nicht, daß

darin eine nennenswerte Fehlerquelle in der Auswertung des Tests bestehe.

Im Gegensatz zu diesen Veröffentlichungen stehen Untersuchungen am Menschen von O w e n (103), H e r k e n und S t a p e n - h o r s t (59), B r a u n, M e x und P e z o l d (10), sowie P e z o l d und K e s s e l (105), die nach Instillation von 2 - 10 mg BSP/kg KGW in den Magen, bzw. das Duodenum den Farbstoff zu keiner Zeit nach der Applikation im Serum nachweisen konnten. Da in einigen Fällen nach intravenöser BSP - Injektion jedoch nach 45 Minuten die gleiche oder sogar eine geringgradig höhere Serumkonzentration im Vergleich zum 30-Minuten-Wert vorgefunden wurde, soll ein EHK nicht vollkommen ausgeschlossen sein (10, 59). Die folgende Abbildung soll in vereinfachter Form einen kurzen Überblick über die derzeitige Vorstellung des BSP - Metabolismus geben.

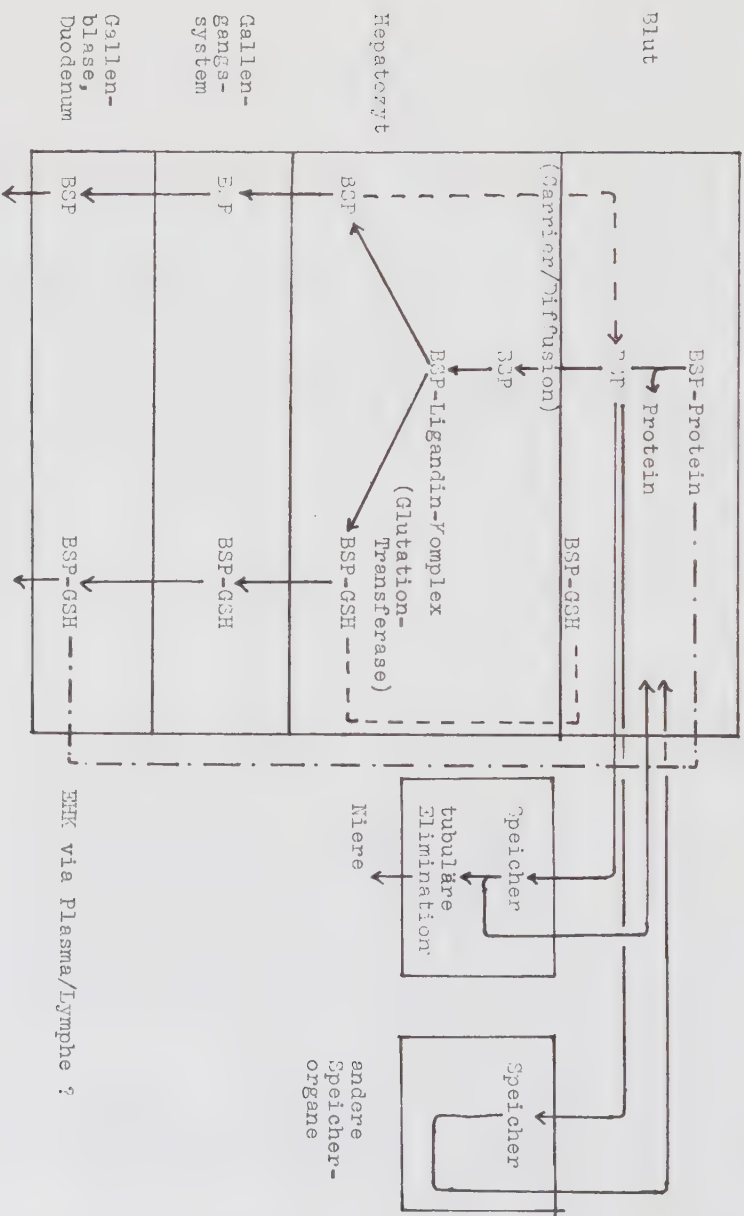


Abb. 2: Vereinfachtes Modell des BSP-Metabolismus

2.3.6. Einflüsse auf die BSP - Elimination

2.3.6.1. Zirkulatorische Einflüsse

Verminderter Leberblutfluß führt zu weniger Farbstoffaufnahme durch die Leber und dadurch zu erhöhter Retention im Blut. Herzinsuffizienz, Hypovolämie und Schock verlangsamen ebenso die BSP - Elimination wie extrahepatische (portosystemische) und intrahepatische (zirrhotische) Shunts (129).

2.3.6.2. Störungen des Aufnahmemechanismus

Abnormale Carrier für organische Anionen, kongenital vorhanden bei mutierten Southdown - Schafen, bzw. erworben durch bestimmte Arzneimittel und Toxine, oder die kompetitive Hemmung der Aufnahme durch Bilirubin, ICG, Bengalrot und andere Stoffe können Ursache für erhöhte BSP - Retention sein.

Ebenso kann ein Defizit an intrazellulären Bindungsproteinen (Y und Z) die Farbstoffaufnahme in die Hepatozyten verlangsamen (68, 129).

2.3.6.3. Einflüsse auf Speicherung und Konjugation

Ein Mangel an Ligandin (Y) und Z-Protein soll die Speicherkapazität für BSP herabsetzen. Eine Hemmung der Konjugation ist durch Stoffe denkbar, die mit BSP um Glutathion konkurrieren (129).

2.3.6.4. Einflüsse auf die Gallesekretion

Eine kongenitale Störung des Exkretionsmechanismus (abnormaler Carrier?) liegt bei Corriedale - Schafen vor; beim Menschen wird dieser Defekt als Dubin - Johnson - Syndrom bezeichnet.

Erworbene Exkretionsstörungen aufgrund von Lebererkrankungen, durch Arzneimittel und Toxine und Konkurrenz um die Exkretion in die Galle (Bilirubin, Gallensäuren, Arzneimittel) führen ebenso

wie intra- und posthepatische Gallengangsobstruktionen zu erhöhter BSP - Retention (129).

2.3.6.5. Einflüsse physiologischer Faktoren

Neugeborene, insbesondere Frühgeborene, scheiden BSP langsamer aus als Erwachsene. Grund dafür soll ein insuffizienter Exkretionsmechanismus bei normaler Aufnahme in die Leberzelle und ungestörter Konjugation sein.

Für geringfügige Retentionserhöhung bei Menschen über 50 Jahren werden zirkulatorische Einflüsse verantwortlich gemacht.

Das Geschlecht hat keinen Einfluß auf die Retention, allerdings sind Speicherkapazität und Transportmaximum beim Mann etwas größer als bei der Frau (s.u.). Eine Retentionserhöhung wurde am Ende der Menstruation und nach Einnahme von Kontrazeptiva beobachtet. Auch in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft steigen die Retentionswerte an, kehren aber im Puerperium wieder auf die Ausgangswerte zurück. Inwieweit Sexualhormone dafür verantwortlich sind, ist noch nicht geklärt (68).

Die Nahrungszusammensetzung hat wenig Einfluß auf die BSP - Elimination, lediglich nach einer extremen Proteinmangeldiät konnte bei Ratten eine verlangsamte Ausscheidung beobachtet werden (68). Bei der Durchführung des BSP - Tests sollte der Patient allerdings nüchtern sein, um eine beschleunigte BSP - Ausscheidung durch erhöhten Gallefluß zu vermeiden. Schwere körperliche Anstrengung soll, vermutlich aufgrund relativ verminderter Leberdurchblutung, zu erhöhten Retentionswerten führen.

2.3.6.6. Arzneimittelwirkungen

Mögliche Hemmungsmechanismen einiger Arzneimittel auf die BSP - Ausscheidung sind in Tabelle 2 aufgeführt (s.u.).

Tab. 2: Arzneimittelwirkungen auf die Leber, bzw. deren Funktion

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Cholezystographische Agentien: Bunamiodyl, Jodipamid		X			X				
Probenecid		X	X						
Flavaspidic acid		X		(X)					
Novobiocin		X			X				
Rifamycin						X			X
Phenothiazine									X
Äthanol					(X)		X		
Morphine, Codein								X	
CCl ₄ , Dimethylnitrosamin, Thioacetamid	X						X		
Steroide		(?)				(?)			(X)
Gallensäuren Na-Dehydrocholat Na-Taurocholat		X		X		X			

Erläuterungen:

- 1 = reduzierter Leberblutfluß
- 2 = Hemmung der Aufnahme von BSP in die Zelle
- 3 = Reflux von BSP aus der Zelle
- 4 = intrazelluläre Konkurrenz mit BSP um Proteinbindung
- 5 = Hemmung der BSP - Konjugation
- 6 = Hemmung der BSP - Exkretion
- 7 = Zellschaden
- 8 = Kontraktion des Sphinkter Oddi (Kontraktion und erhöhter Galle-
druck haben lediglich Auswirkungen auf die 2. Exkretionsphase
der BSP - Elimination)
- 9 = Cholestase

2.3.6.7. Verhalten der BSP - Ausscheidung bei verschiedenen Krankheiten

Der BSP-Test zeigt Lebererkrankungen mit großer Regelmäßigkeit an (32). Er erwies sich auch beim Hund als der sensibelste Leberfunktionstest bei der Aufdeckung akuter, auch anikterisch verlaufender Hepatopathien (20, 32, 49, 81), wie z.B. akuter viraler oder toxischer Hepatitis.

Chronische Hepatopathien erzeugen ebenfalls - abhängig vom Grad der Exkretionsstörung - pathologische BSP - Retentionen. Das Ausmaß hepatischer Dysfunktion bei Zirrhose, Fibrose, Leberatrophie und primären Lebertumoren oder Metastasen zeigt der BSP-Test deutlich an (12, 32, 49, 64, 91). Logischerweise steigt die Farbstoffretention ebenfalls bei intra- und posthepatischer Cholestase an (68). Da bei posthepatischer Cholestase jedoch eine mechanische Verlegung der galleabführenden Wege vorliegt und BSP deshalb ins Blut regurgitiert wird, sind die erhöhten BSP - Blutwerte nicht oder nur bedingt mit dem Grad der Leberzellschädigung, sondern mit dem Ausmaß der Obstruktion korreliert.

Aufgrund der Tatsache, daß BSP, ICG, Bilirubin und Serumgallensäuren den gleichen Exkretionsmechanismus beanspruchen (42), sollten Farbstofftests bei Bilirubinwerten über 5 mg/100 ml nicht durchgeführt werden (76).

Sekundäre Beteiligung der Leber am Krankheitsgeschehen beeinflusst den BSP-Test jeweils in Abhängigkeit vom Grad der Leberzellinsuffizienz. So läßt sich auch erklären, daß Eikmeier (32) nur 11 von 18 Fällen mit Fettlebern erfassen konnte. In Fällen von Diabetes mellitus mit Leberlipidose und -degeneration (20), Septikämie (32, 91) mit diffuser degenerativer Verfettung, Pyometra (20, 32), Verbrennungen (32), kardialer Dekompensation, Schock und schwerer Dehydratation (20, 32, 81) sowie portosystemischen Anastomosen (68, 89), die verminderten Leberblutfluß verursachen, zeigte der BSP-Test in Abhängigkeit vom Ausmaß die Beeinträchtigung der Leberfunktion an.

Die Erhöhung der Körpertemperatur soll keinen Einfluß auf das Er-

gebnis des Tests haben (20, 68, 81) - eine direkte Erwärmung auf 42°C Körpertemperatur hatte beim Hund keinen Effekt auf die BSP-Extraktion (68) - ; deshalb werden für erhöhte BSP - Retentionswerte bei Fieber Toxinwirkungen verantwortlich gemacht (68). Cholezystitis, akute Peritonitis und postoperative Verminderung des Leberblutflusses können ebenfalls zu erhöhter BSP - Retention führen (68).

Besondere Verhältnisse liegen bei Nierenerkrankungen vor: Proteinurie kann beschleunigte Farbstoffelimination verursachen, da aufgrund der erniedrigten Nierenschwelle für höhermolekulare Verbindungen wasserunlösliches BSP tubulär sezerniert werden kann. Hypalbuminämie im Zusammenhang mit nephrotischem Syndrom beschleunigt ebenfalls die BSP - Elimination. Der Grund dafür ist, daß weniger BSP an Plasmaproteine gebunden und freies BSP schneller durch die Leber ausgeschieden werden kann (48). Die Verhältnisse komplizieren sich noch insofern, als Nierenerkrankungen häufig mit Hepatopathien assoziiert sind und die verminderte Farbstoffelimination über die Leber durch die renale Exkretion "kompensiert" wird; dadurch werden eventuell leichte Leberschäden nicht erkannt, weil normale BSP - Retentionswerte auftreten können (68). Schließlich muß einschränkend erwähnt werden, daß gerade bei geringgradigen morphologischen Leberveränderungen eine Korrelation histologisch nachweisbarer Läsionen mit dem pathologischen Ausfall der Farbstoffeliminationsproben nicht immer besteht (20, 81, 91). Gründe dafür dürften die große Kompensationsfähigkeit der Leber und der relativ spät eintretende Funktionsausfall geringgradig alterierter Hepatozyten sein.

2.3.7. Kinetik der BSP - Ausscheidung

Nach Injektion einer Einzeldosis von 5 mg/kg KGW BSP beim Menschen zeigt der Blutspiegel bei semilogarithmischer Auftragung der Konzentration gegen die Zeit den in Abbildung 3 aufgezeichneten Verlauf.

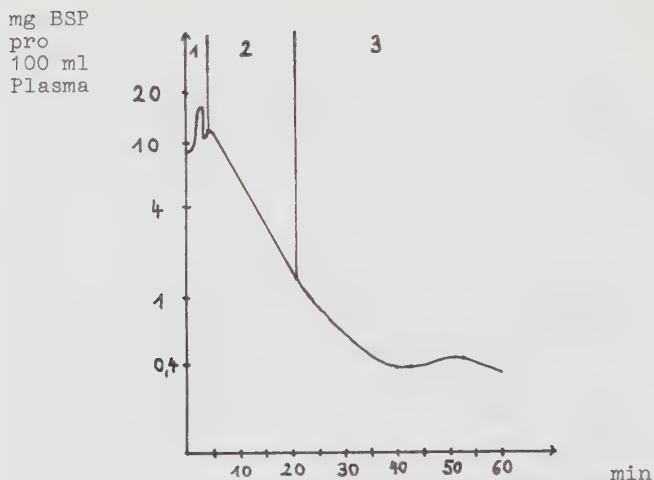


Abb. 3 nach Zimmer (142); Erläuterungen im Text.

Die Unregelmäßigkeiten in der 1. Phase ("1") sind auf die Mischung des Farbstoffs mit dem zirkulierenden Blut zurückzuführen. Während dieser Zeit laufen Invasions- und Eliminationsvorgänge nebeneinander ab, so daß die Gesetzmäßigkeit der Elimination gestört ist. Nach Abschluß der 1. Phase in der 3. Minute können beim gesunden Menschen schon bis zu 30 % des BSP eliminiert sein.

In der 2. Phase ("2"), von Z i m m e r exponentielle Elimination genannt, steht die Ausscheidungsgeschwindigkeit in konstantem Verhältnis zur Blutkonzentration; die Kurve läuft also in diesem Abschnitt gerade, beim Menschen zwischen der 3. und 20. Minute (142), beim Hund zwischen der 3. und 10. Minute (39, 92). Der größte Teil des Farbstoffs wird während dieser Phase durch schnellen Transfer vom Plasma in die Leberzellen aus dem Blutkreislauf eliminiert, und geringfügige Störungsprozesse (enterohepatischer Kreislauf, Rückdiffusion von BSP und BSP - Metaboliten ins Blut) können wegen der hohen Ausscheidungsgeschwindigkeit nicht meßbar in Erscheinung treten.

In der 3. Phase, der sog. Eliminationsstörung ("3") verlangsamt

sich die Ausscheidung und es kommt zu einem Knick in der Kurve, beim Menschen meist zwischen der 15. bzw. 20.- 30. Minute, beim Hund frühestens ab der 10. Minute (5, 33, 39, 46, 52, 92, 99, 108, 127, 142). Dieser Abschnitt entspricht dem langsamen Transfer des Farbstoffs von der Leberzelle in die Galle (107), und hier können sich aufgrund der geringen Restkonzentration im Blut extrahepatische Einflüsse deutlicher bemerkbar machen (24, 36, 56, 92, 142). So kommt es gelegentlich sogar zu einem zeitweiligen Anstieg der Eliminationskurve (68, 142).

Dieser unregelmäßige Verlauf der 3. Phase wurde allerdings nicht von allen Autoren beobachtet, vielfach wird im Anschluß an die steil abfallende Gerade der exponentiellen Phase ein zweiter, flacher verlaufender, exponentieller Kurventeil beschrieben; dieser ist aber zeitlich nicht immer deutlich abzugrenzen (17, 20, 39, 52, 68, 108, 127).

2.3.8. Auswertungsverfahren des BSP-Tests

2.3.8.1. Direkte Bestimmung der Farbstoffretention

Diese Methode wurde von R o s e n t h a l und W h i t e (117) entwickelt und seither vielfach in unterschiedlichen Modifikationen mit guten Ergebnissen angewandt (12, 47, 49, 56, 64, 66, 81, 85, 91, 94, 105).

Die Farbstoffretention in Serum oder Plasma wird nach einer bestimmten Zeit (nach 20, 25, 30, 45, 60 Minuten) gemessen und auf die Anfangskonzentration bezogen. Nimmt man eine Standardlösung von 10 mg BSP/100 ml aqua dest. als 100 % - Wert an, so wird dabei ein konstantes Plasmavolumen von durchschnittlich 50 ml/kg KGW vorausgesetzt (68).

Diese Methode birgt große Ungenauigkeiten in sich, da das Plasmavolumen starken tierartlichen, individuellen und physiologischen Schwankungen unterliegt (105). Aus diesem Grund wurde versucht, eine initiale Maximalkonzentration von BSP und damit einen individuellen 100 % - Standardwert zu bestimmen. Zu welchem Zeitpunkt

nach der Farbstoffinjektion dieser allerdings als erreicht angesehen werden kann, wird von verschiedenen Autoren sehr unterschiedlich beurteilt. Die Angaben reichen von 1 - 5 Minuten p.i. (10, 54, 59, 91, 105). Da die BSP - Ausscheidung sofort nach der Applikation einsetzt, schränkt Z i m m e r den Wert einer Retentionsmessung stark ein (142).

2.3.8.2. Indirekte Eliminationsgrößen

2.3.8.2.1. Clearance

Ursprünglich als renale Clearance entwickelt, konnte dieses Verfahren schließlich auch für Stoffe verwandt werden, deren totale Clearance praktisch der hepatischen entspricht, da sie nahezu ausschließlich über die Leber ausgeschieden werden; dies trifft für BSP zu (139). Die Bestimmung kann mittels kontinuierlicher Infusion bei gleichbleibendem Blutspiegel ("steady state"), oder nach einmaliger Injektion bei abfallendem Blutspiegel während der exponentiellen Phase ("slope") bestimmt werden (46). Die Clearance gibt das je Zeiteinheit von einer bestimmten Substanz gereinigte Plasmavolumen an (92, 145).

2.3.8.2.2. Fraktionierte Clearance:

Synonyma: Clearance Koeffizient K, fractional clearance, fractional disappearance rate FDR, Eliminationskonstante k, logarithmic disappearance rate, prozentuale Eliminationsrate PER.

Die Angaben in der Literatur über Bezeichnung und Berechnungsart dieser Größe sind verwirrend, drücken jedoch prinzipiell denselben Sachverhalt aus. Sie sind leicht ineinander umrechenbar.

Während der exponentiell verlaufenden Eliminationsphase bestimmt, drückt die fraktionierte Clearance den Anteil des Plasmavolumens aus, das pro Minute vom Farbstoff befreit wird (96, 145). Sie entspricht damit der Steigung der Eliminationsgeraden.

Eine weitere, daraus abgeleitete Größe stellt die Halbwertszeit $T_{1/2}$ dar. Sie gibt die Zeit an, in der die Blutkonzentration eines Stoffes um die Hälfte abgenommen hat. $T_{1/2}$ kann auch nach graphi-

scher Darstellung direkt aus der Ausscheidungskurve abgelesen werden (6, 8, 11, 123, 125, 131, 136). Die Ableitung dieser Parameter hat D o s t ausführlich beschrieben (27, 28, 29). In der folgenden Tabelle soll ein Überblick über die gebräuchlichen Bezeichnungen der indirekten Eliminationsgrößen und ihre Berechnung gegeben werden:

Tab. 3, modifiziert nach J a b l o n s k i und O w e n (68).

Name	Symbol	Formel	Benennung
fractional disappearance rate FDR fractional clearance fraktionierte Clearance Clearance Koeffizient	K, α	$\frac{\ln y_1 - \ln y_2}{t_2 - t_1}$	min^{-1}
logarithmic disappearance rate Clearance Koeffizient Eliminationskonstante	k, k_K, α'	$\frac{\log y_1 - \log y_2}{t_2 - t_1}$	min^{-1}
percentage disappearance rate PDR prozentuale Eliminationsrate PER	-	100 K 100 k	$\% \text{ min}^{-1}$
Halbwertszeit	$T_{1/2}$	$\frac{\ln 2}{K} ; \frac{\log 2}{k}$	min
Clearance Gesamtclearance totale Clearance	C Cl_{tot}	$K \cdot V_P$	ml min^{-1}

y_1, y_2 = Blutkonzentration zur Zeit t_1, t_2

V_P = Plasmavolumen (geschätzt)

Die Bestimmung indirekter Eliminationsgrößen hat gegenüber der Retentionsmessung folgende Vorteile:

Sie ist unabhängig vom individuellen Plasmavolumen und in gewissen Grenzen auch von der Anfangskonzentration des Farbstoffs. So kann eine Standarddosis gewählt werden und das Wiegen des Patienten entfällt. Die Probeentnahmen müssen nicht zu exakt festgelegten Zeitpunkten durch geführt werden (z.B. genau in der 3.

und 30. min), sondern lediglich innerhalb der exponentiellen Elimination, hier allerdings müssen die Zeiten der Probeentnahmen genau festgehalten werden (Stoppuhr!). Die Testdauer wird wesentlich abgekürzt; dadurch sind die Ergebnisse nicht durch extrahepatische Einflüsse verfälscht (24, 99). Außerdem werden Meßungenauigkeiten aufgrund geringer Konzentrationen, wie sie bei Retentionsmessungen nach 30 oder 45 min vorliegen, vermieden (52).

Die Bestimmung der indirekten Eliminationsgrößen Transportmaximum T_m und Speicherkapazität S fanden wegen der aufwendigen Infusionstechnik bei verschiedenen Geschwindigkeiten keinen Eingang in die Routineuntersuchung (60). T_m gibt die maximale Transferrate von BSP aus der Leber in die Galle an (Angabe in mg/min), S die maximale Speicherkapazität der Leber für BSP (Angabe in mg gespeichertes BSP/ mg BSP/100 ml Plasma) (61, 68, 81, 133).

In Tabelle 4 sind die in der Literatur angegebenen Normalwerte für die BSP - Ausscheidung zusammengefaßt.

Tab. 4: Normalwerte für BSP - Ausscheidung

BSP - Retention

Testbedingungen	Bezugswert	Normalwert	Literatur
<u>15 min-Retention</u>	Serumleerwert	< 1mg/100 ml	85
Dosis 10 mg/kg	Standard 20 mg BSP/100 ml	< 6 %	47
<u>30 min-Retention</u>	?	< 5 %	12
Dosis 5 mg/kg	2 min-Konzentration	< 5 %	78
	Standard 10 mg BSP/100 ml	< 5 %	20, 97
	3 min-Konzentration	< 5 %	76
<u>45 min-Retention</u>	Serumleerwert	0,4 mg %	85
Dosis 10 mg/kg	3 min-Konzentration	< 4,5 %	91
Dosis 5 mg/kg	Standard 10 mg BSP/100 ml	< 1,5 %	20
	Standard 4 mg BSP/100 ml	< 5 %	49

Eliminationskonstante k (min⁻¹)

Mittelwert	Grenzwert	Literatur
0,084 (0,076 - 0,096)	0,070	92

Halbwertszeit T_{1/2} (min)

Mittelwert	Grenzwert	Literatur
3,6 (3,1 - 4,0)	4,3	92

Transportmaximum T_m (mg/mg/kg)

0,139 ± 0,051; 0,190 ± 0,070; 0,176 ± 0,029	Literatur
	60, 78, 106

Speicherkapazität S (mg/mg/100 ml/kg)

3,20 ± 1,68; 2,50 ± 0,60; 2,05 ± 0,68	Literatur
	60, 78, 106

2.3.8.3. Unverträglichkeiten, Zwischenfälle

Zwischenfälle mit letalem Ausgang in Zusammenhang mit dem BSP-Test sind beim Hund mit einer Ausnahme nicht beschrieben.

K a s b o h m und L e t t o w (71) beobachteten 1970 bei einer Schäferhündin mit paraproteinämischer Plasmazellenretikulose den bisher einzigen tödlichen Zwischenfall, sie führten ihn auf einen allergischen Schock mit Kreislaufkollaps zurück; es ließ sich aber kein ursächlicher Zusammenhang mit der BSP - Injektion nachweisen. Bei der Sektion wurden außerdem generalisiert auftretende Granulome festgestellt, die eventuell für eine Sensibilisierung verantwortlich gemacht werden können.

Dagegen sind Unverträglichkeitsreaktionen, auch einige Todesfälle bei Menschen mit allergischen Erkrankungen, bekannt (63, 71, 91); sie nehmen aber angesichts von etwa 10 Millionen in der Humanmedizin durchgeführten Tests einen sehr geringen Prozentsatz ein (0,0001 %). Leichtere Reaktionen, wie Unruheerscheinungen und Erbrechen, Mißempfindungen bei schneller Injektion und lokale Reizungen mit nachfolgender Thrombophlebitis und Nekrose bei paravenöser Injektion sind dagegen verschiedentlich beobachtet worden (63, 71, 91, 117).

2.4. Der Zweifarbstofftest (ZFT)

Z i m m e r beschrieb 1955 folgende Modifikation des BSP-Tests (142): Er injizierte simultan mit BSP einen zweiten Farbstoff in einem bestimmten Mischungsverhältnis. Der zweite Farbstoff unterliegt während der gesamten Testdauer keiner nennenswerten Elimination aus dem Blut. Er dient zur Plasmavolumenbestimmung und so gleichzeitig zur Messung der BSP - Anfangskonzentration und muß folgenden Anforderungen gerecht werden:

1. Er muß ungiftig und frei von Nebenwirkungen auch in Verbindung mit BSP sein;
2. er muß so langsam ausgeschieden werden, daß während der Meßdauer kein merklicher Abfall des Blutspiegels auftritt;
3. er darf die BSP - Elimination nicht stören;

4. er muß kolorimetrisch gut von BSP zu differenzieren sein;
5. BSP und dieser Farbstoff müssen im Körper das gleiche Verteilungsvolumen besitzen.

Nach Vorversuchen mit verschiedenen, zur Volumenbestimmung gebräuchlichen Farbstoffen fand er die oben beschriebenen Anforderungen am besten von Trypanrot (TR) erfüllt (siehe auch 113). Mit einem maximalen Absorptionsspektrum von 490 - 510 nm läßt sich TR kolorimetrisch gut von BSP (575 - 585 nm) differenzieren. Die Forderung zur genauen Bestimmung der BSP - Anfangskonzentration ergab sich aus der raschen BSP - Elimination. Eine direkte Messung der Anfangskonzentration ist nicht möglich, da vor der dritten Minute p.i. noch keine homogene Mischung im Blut vorliegt, bis zu diesem Zeitpunkt jedoch bereits über 30 % des BSP ausgeschieden sein können (143).

Fehlerquellen bei der Auswertung der Meßergebnisse entstehen auch durch die späten Konzentrationsmessungen nach der 20. Minute p.i., wie sie beim Retentionsverfahren vorgenommen werden. Die Fehlergröße ist dabei abhängig von der Leberfunktion und dem Plasmavolumen, beides Parameter, die gerade bei Lebererkrankungen großen Schwankungen unterliegen (143).

Z i m m e r injizierte nach Abnahme einer Leerwertprobe 10 ml einer wäßrigen Lösung von 300 mg BSP und 100 mg TR als Einheitsdosis beim Menschen. Nach genau 10 Minuten, also während der exponentiellen Eliminationsphase nahm er eine Blutprobe, maß die TR - Konzentration im Plasma bei 490 nm gegen den Leerwert und bestimmte anschließend in der alkalisierten 10 - Minuten - Probe die BSP - Konzentration bei 570 nm (Messung gegen die TR - gefärbte, nicht alkalisierte 10-Minuten-Probe). Über die konstante TR-Konzentration konnte er die Plasmamenge und BSP - Anfangskonzentration errechnen und so k und $T_{1/2}$ mit nur einer einzigen Probenentnahme bestimmen.

Z i m m e r benutzte als Wertmaßstab in seiner Dissertation den Begriff der "pathologisschen Ausscheidungshemmung (PAH)", die er aus k errechnete. Er setzt den Grenzwert für k (beim Menschen $k = 0,045$) mit 0 % und eine totale Ausscheidungshemmung ($k = 0,000$) mit 100 % an. So ist eine plastischere Vorstellung vom Ausmaß des Leberschadens möglich. Er gibt zudem in einer Eliminations-

tabelle Plasmamenge und BSP - Anfangskonzentrationen für die ermittelten TR - Konzentrationen und Normalausscheidungswerte für BSP nach 3 und 10 Minuten an, ebenso lassen sich k , $T_{1/2}$ und PAH ablesen.

Auch andere Autoren (113, 143) bestätigen die Brauchbarkeit des ZFT im klinischen Einsatz. Seine Vorteile liegen in der Abkürzung der Testdauer, Verminderung der Zahl der Probeentnahmen, zusätzlicher Information durch die Bestimmung des Plasmavolumens, Wegfallen des Wiegens durch Injektion einer Einheitsdosis und der Vereinfachung der Rechenarbeit durch den Gebrauch der Eliminationstabelle.

Bei paravenöser Injektion kommt es zu den bekannten Reizungen des umliegenden Gewebes durch BSP und zur Vitalfärbung durch TR, die allerdings nach einigen Tagen abklingt. Auch 5 - 6 malige, kurzfristige Wiederholung des ZFT führten zu keiner subjektiven oder objektiven Beeinträchtigung des Patienten (143).

Bei Auftreten von Hämolyse in den Blutproben ist der ZFT nicht auswertbar, da Hämoglobin und TR im Absorptionsspektrum interferieren, ebenso stören hohe Bilirubinwerte (113).

M i e l k e (93) modifizierte den ZFT nach Zimmer, da eine schematische Übernahme der Testdurchführung für den Hund nicht möglich ist. Diese Tierart scheidet BSP wesentlich schneller aus als der Mensch, und eine exponentielle Eliminationsphase liegt nur zwischen der 3. und 10. Minute vor. Er untersuchte insgesamt 29 Hunde, davon 16 gesunde und 5 kranke Patienten; drei Testergebnisse bewegten sich im Grenzbereich, bei fünf Tests waren die Ergebnisse fragwürdig oder falsch.

M i e l k e injizierte keine Einheitsdosis wie Z i m m e r beim Menschen, sondern führte Gewichtsklassen ein. Hunden mit 3 - 9 kg KGW ($\emptyset = 6$ kg) applizierte er 1 ml der Testlösung (30 mg BSP und 10 mg TR), bei 9 - 15 kg KGW 2 ml, usw. Er setzte den günstigsten Zeitpunkt für die 2. Probeentnahme bei 5 Minuten an. Außerdem benutzte er Übersichtlichkeitshalber keine Eliminationstabelle, sondern ein Eliminationsdiagramm, aus dem er BSP - An-

fangskonzentration, k und PAH ablesen konnte.

Während der ersten 10 Minuten p.i. beobachtete M i e l k e keinen merklichen Abfall in der Serum - TR - Konzentration; außerdem differierte die über TR bestimmte BSP - Anfangskonzentration nur sehr geringfügig von der durch Extrapolation der BSP - Kurve auf den 0 - Wert ermittelten. Als Grenzwert für k gibt er $0,065 \text{ min}^{-1}$ an.

Nach M i e l k e wird reines BSP etwas schneller ausgeschieden ($k_{\text{Grenzwert}} = 0,070$) als BSP in der ZFT-Lösung. PAH-Werte bis 10 % sind als zweifelhaft anzusehen.

Zusammenfassend kam er jedoch zu dem Ergebnis, daß der ZFT beim Hund mit gutem Erfolg eingesetzt werden kann. Zu beachten ist jedoch, daß die relativ niedrigen TR-Konzentrationen die Extinktionsmessung der TR-Proben erschweren und Serumtrübungen bzw. Hämolyse die Testauswertung verfälschen. Auf exaktes Arbeiten ist auch deshalb zu achten, weil sich bei der Umrechnung von TR auf die BSP-Anfangskonzentration mit dem Faktor 3 schon geringe Fehler in der TR-Messung multiplizieren. M i e l k e schlägt als Verbesserung die Abfüllung der Testlösung in 2- bzw. 5 ml - Ampullen vor, da selten Hunde von 60 kg KGW und mehr getestet werden.

K r o l l (79) führte den ZFT als Leberfunktionsprobe bei normal und eiweißmangelernährten Schweinen durch. Die BSP-Ausscheidung erfolgt beim Schwein sehr schnell, zudem schwanken die Plasmavolumina sehr stark; bei zunehmendem KGW sinkt das Plasmavolumen. Er injizierte 5 ml der Testlösung (150 mg BSP und 50 mg TR) pro Tier. Ein absolut gültiger Zeitpunkt für die zweite Probeentnahme beim Schwein konnte nicht festgelegt werden, da die Elimination zu schnell erfolgt und die exponentielle Phase zu kurz andauert. Der ZFT ist also bei dieser Tierart nur mit großen Einschränkungen durchführbar.

2.5. Experimentell hervorgerufene Lebererkrankungen

Vielfach wird versucht, die Pathogenese von Lebererkrankungen beim Hund auf experimentellem Wege nachzuvollziehen, um die Krankheitserscheinungen an diesem Organ zu studieren und die Empfindlichkeit verschiedener Nachweismethoden zu überprüfen. Einen sensiblen Modellversuch mit charakteristischen, nachweisbaren Leberzellveränderungen stellt die durch Lithocholsäure hervorgerufene intrahepatische Cholestase dar, die auch im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurde.

Lithocholsäure (LC) entsteht natürlicherweise im Gallensäuremetabolismus des Hundes nur zu 1 - 5 % der Gesamtgallensäuren. Im Überschuß oral verabreicht, führt sie durch Detergenswirkung an den Mikrovilli zur Deformation und Zerstörung der Ultrastruktur der kanalikulären Leberzellmembran (37, 42, 57, 74, 104, 137). In der Folge kommt es zur Erweiterung der kleinen Gallengänge und zur Ablagerung von Gallethromben in deren Lumina und von Gallepigmentgranula im Zytoplasma der Leberzellen.

Die Sekretion gallepflichtiger Stoffe ist gestört, es tritt nach der Definition von P o p p e r eine "Behinderung des Galleflusses als Folge einer gestörten Sekretion von Gallensäuren in die Kanalikuli ohne mechanische Verlegung der galleableitenden Wege", d.h. eine intrahepatische Cholestase, ein (109).

Die toxische Wirkung der LC ist dosis- und zeitabhängig, der Hund benötigt 1 g LC/kg KGW und Tag, um sicher nach zwei Tagen die typischen morphologischen und klinischen Veränderungen auszubilden (37, 74, 137). Die entstandene intrahepatische Cholestase wird durch Anstieg der Serumgallensäuren und der ALT-, G1DH- und AP-Aktivitäten angezeigt. Die Serumbilirubinkonzentrationen reagieren träge und steigen erst bei fortgeschrittener Krankheit an.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Tiermaterial

Der ZFT nach Zimmer wurde bei klinikeigenen Hunden und Patienten der I. Medizinischen Tierklinik durchgeführt, bei denen ein Verdacht auf Lebererkrankung, bzw. sekundäre Beteiligung der Leber am Krankheitsgeschehen vorlag.

Außerdem wurde an fünf Beaglerüden im Alter zwischen drei und vier Jahren ein Cholestase-Versuch mit LC (Na-Lithocholat in Pulverform, Sigma) durchgeführt. Die Grundlagen dieses Cholestase-Modells sind ausführlich in der Literatur beschrieben (s. Kap. 2.5. und 37, 42, 74, 137).

Zur Applikation der relativ großen Gelatinekapseln (WDT), in die die LC abgefüllt wird, empfiehlt es sich, diese mit Olivenöl oder einem anderen geeigneten Gleitmittel zu benetzen, um den Abschluckvorgang zu erleichtern.

3.2. Haltung und Fütterung

Sämtliche Hunde waren in Einzelboxen ohne direkten Kontakt zum Nachbartier untergebracht. Die Fütterung bestand aus einem Gemisch aus handelsüblichem Dosenfutter mit gekochtem Rindfleisch und gegartem Reis; es wurde handwarm dargeboten. Leberkranke Patienten erhielten gegebenenfalls Diätfutter aus Quark, bzw. Dickmilch und Reis.

3.3. Materialien zur Durchführung des Tests

3.3.1. "Zweifarbstofftest für die Leberfunktionsprüfung nach Dr. Zimmer" (Fa. Merck, Darmstadt).

In den 10 ml - Ampullen sind 300 mg BSP und 100 mg TR enthalten (Packungen mit 3, 15 und 60 Ampullen).

3.3.2. 100 ml - Erlenmeyer-Kolben.

3.3.3. Desinfektionsmittel zur Venenpunktion.

3.3.4. Einmalkanülen unterschiedlicher Stärke (Braun, Melsungen).

3.3.5. Stoppuhr

3.3.6. Serumröhrchen zur Blutentnahme (Sarstedt).

3.3.7. Zentrifuge Rotixa/A (Hettich).

3.3.8. Reagenzgläser (Plastik) zum Ansetzen der Proben.

3.3.9. Isotonische Kochsalzlösung (NaCl).

3.3.10. 10 %-ige Natronlauge (NaOH).

3.3.11. Eppendorf-Pipetten, Hubhöhe 50, 100 und 800 μ l mit dazugehörigen Spitzen.

3.3.12. Eppendorf-Photometer PCP 6121.

3.3.13. Taschenrechner mit log-Funktion.

3.3.14. Lineares und halblogarithmisches Millimeterpapier.

3.3.15. Lithocholsäure (Fa. Sigma).

3.3.16. Gelatine kapseln, Volumen ca. 4 ml (WDT).

3.4. Aufstellen der Eichkurven

Zunächst wurde aus der Testlösung (TL) eine Verdünnung hergestellt, die in 100 ml 15 mg BSP und 5 mg TR enthielt = L 1 (0,5 ml TL + 99,5 ml Aqua bidest.).

Anschließend wurde aus dieser Lösung 1 eine Verdünnungsreihe von neun weiteren Lösungen (L 2 - L 10) aufgestellt, in der die Farbstoffkonzentration jeweils um 10 % abfiel. Von jeder dieser Verdünnungen wurden folgende Ansätze in Plastikröhrchen pipettiert: je 100 μ l L 1 - L 10 + 850 μ l isoton. NaCl = TR-Proben = b (rot) und 100 μ l L 1 - L 10 + 800 μ l isoton. NaCl + 50 μ l 10 %-ige NaOH = = BSP-Probe = c (blauviolett).

Im Photometer erfolgte nun die Messung der Proben b gegen Aqua bidest. bei der Wellenlänge 492 nm zur Ermittlung der Extinktionen der Proben mit bekannter TR-Konzentration.

Zur Aufstellung der BSP-Eichkurve wurden die Proben c gegen Aqua bidest. bei 578 nm gemessen.

Die ermittelten Extinktionen der TR- bzw. BSP-Proben wurden nun auf lineares Millimeterpapier gegen die Konzentrationen aufgetragen (siehe Abb. 4).

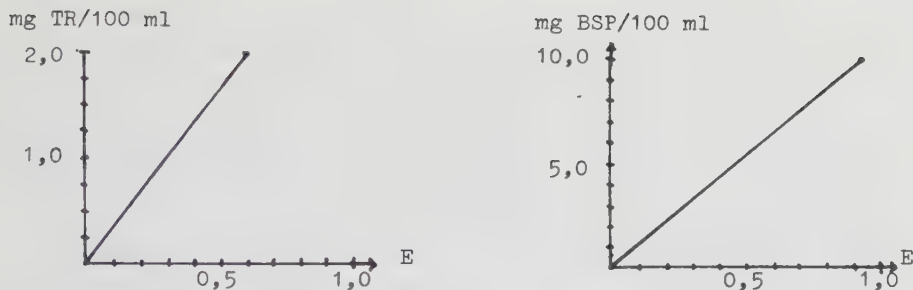


Abb. 4: TR- und BSP-Eichkurven

Es empfiehlt sich, für die Durchführung des Tests jeweils eigene Eichkurven aufzustellen und nicht schematisch die hier aufgezeichneten zu übernehmen, um Material- und Geräte-abhängige Schwankungen auszuschalten.

3.5. Durchführung des Tests am Patienten

3.5.1. Wiegen des Patienten

3.5.2. Blutentnahme für den Leerwert (ca. 5 ml) aus der V. cephalica antebrachii, bzw. V. saphena parva.

3.5.3. Injektion von 1 ml TL/6 kg KGW (auf- bzw. abrunden auf 0,1 ml); nach Injektion der halben Testdosis Stoppuhr in Gang setzen.

3.5.4. Probeentnahmen (mindestens zwei) aus einer anderen Vene zwischen der 3. und 10. Minute, z.B. zur 3., 6. und 9. Minute, genauen Zeitpunkt mit Stoppuhr festhalten (Mitte der Probeentnahme).

3.6. Arbeiten im Labor

3.6.1. Zentrifugieren der Proben bei 3000 U/min, Abpipettieren des Serums. Aus dem Leerwert kann gleichzeitig eine Bestimmung von Enzymaktivitäten und Serumbilirubin erfolgen.

3.6.2. Aufbereitung der Proben

Zur Herstellung der Lösungen für die photometrische Messung werden folgende Mengen in Reagenzgläser pipettiert:

	Serum (μl)	Phys.NaCl (μl)	10%ige NaOH (μl)	Bezeichnung
Leerwert	100	850		Probe a
3-, 6-, 9-Minuten- Proben	100	850		Probe b
	100	800	50	Probe c

3.6.3. Messung des Leerwerts im Eppendorf-Photometer gegen Aqua bidest. bei 492 nm, anschließend Serumprobe auf 0 stellen (= Abziehen der Serumextinktionen für die Vergleichsmessung mit den Probemessungen).

Proben b (= TR-Proben) bei 492 nm gegen Proben a (=Leerwert) messen; ergibt die TR-Konzentrationen der Serumproben.

Umstellen des Photometers auf 578 nm zur BSP-Bestimmung. Messen der Proben c gegen die entsprechenden Proben b; ergibt die BSP-Konzentrationen.

3.6.4. Auswertung der Ergebnisse:

Ablesen der TR- und BSP-Konzentrationen aus der TR- bzw. BSP-Eichkurve.

Umrechnen der TR-Proben zur Bestimmung der BSP-Anfangskonzentration. (Multiplikation mit dem Faktor 3, da das Verhältnis von TR zu BSP in der TL = 1:3).

Eintragen der BSP-Konzentrationen (logarithmisch) auf semi-logarithmisches Millimeterpapier gegen die Zeit (linear).

Bei Abweichen der BSP-Konzentrationen von der Geraden:

Berechnung korrigierter BSP-Konzentrationen mit Hilfe der "Methode der kleinsten Quadrate".

Berechnung von k (Eliminationskonstante) nach der Formel:

$$k = \frac{\log C_1 - \log C_2}{t_2 - t_1}$$

und $T_{1/2}$ (Halbwertszeit): $T_{1/2} = \frac{\log 2}{k}$

wobei C_1, C_2 = BSP-Konzentrationen zur Zeit t_1, t_2 ;

4. ERGEBNISSE

4.1. Allgemeines

Der ZFT wurde insgesamt 58 mal an 44 verschiedenen Hunden im Alter zwischen 5 Monaten und 13 Jahren durchgeführt. Davon waren 17 Tiere Eigentum der I. Medizinischen Tierklinik in München; sie wurden als Blutspender, bzw. zu Demonstrationszwecken im klinischen Unterricht eingesetzt.

Bei all diesen Hunden wurde vor Durchführung des ZFT eine eingehende klinische und labordiagnostische Untersuchung und bei einigen auch eine Leberblindbiopsie durchgeführt; bei keinem Hund konnten Anzeichen für eine Lebererkrankung oder sonstige Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens konstatiert werden.

Außerdem wurden 27 stationär in die Klinik aufgenommene Patienten dem Test unterzogen. Eine Übersicht über Rassen- und Geschlechtsverteilung ist aus Tabelle 5 zu ersehen.

Tab. 5

Rasse	n_{ges}	n_m	n_w	n_{wk}
Beagle	13	7	6	-
Deutscher Schäferhund	7	6	-	1
Rauhhaardackel	5	3	2	-
Cockerspaniel	3	2	-	1
Yorkshire Terrier	2	2	-	-
Saluki	1	1	-	-
Belgischer Schäferhund	1	1	-	-
Pudel	1	-	1	-
Zwergschnauzer	1	1	-	-
Berner Sennenhund	1	1	-	-
Langhaardackel	1	-	1	-
Bullterrier	1	1	-	-
Mischlinge	7	6	1	-
Summe	44	31	11	2

n_{ges} = Gesamtanzahl

n_m = Anzahl männlich

n_w = Anzahl weiblich

n_{wk} = Anzahl weiblich, kastriert

Neben der klinischen Untersuchung wurden je nach Lage des Falles eine gezielte Auswahl der nachfolgend aufgeführten Untersuchungen durchgeführt:

Bestimmung der Serumaktivitäten der Enzyme ALT, AST, AP, γ -GT, GldH, CK, α -Amylase, Lipase, des Serumbilirubinspiegels, der Serumgallensäuren, der NH_3 -Konzentration im Blut, NH_4 -Toleranztest Untersuchung des roten und weißen Blutbildes (gegebenenfalls Differentialblutbild), Urinuntersuchung (bakteriologisch, Sediment), Bestimmung der Prothrombinzeit, Quicktest, Erstellung des Thrombelastogramms, elektrokardiographische Untersuchung (EKG), Röntgenuntersuchung des Abdomens und des Thorax, gegebenenfalls Passage mit Kontrastdarstellung des Verdauungskanals, Laparoskopie und Leberbiopsie unter Sicht, bzw. als Blindbiopsie (soweit bei Klinikpatienten das Einverständnis der Besitzer vorlag) mit anschließender patho-histologischer Untersuchung der Biopsieprobe, sowie Sektion und patho-histologische Untersuchung ⁺⁾ .

4.2. Gesunde Hunde

17 gesunde Hunde (13 Beagles, 4 Boxermischlinge) im Alter zwischen 3 und 9 Jahren (10 männliche, 7 weibliche) wurden dem ZFT unterzogen.

Die durchschnittliche Eliminationskonstante k lag bei $0,096 \pm 0,015$ (Streubreite $0,072 - 0,119$) min^{-1} , die Halbwertszeit $T_{1/2}$ bei $3,14 \pm 0,43$ min.

Männliche Hunde: $k = 0,096 \pm 0,016$ ($0,073 - 0,119$) min^{-1} .

Weibliche Hunde: $k = 0,096 \pm 0,038$ ($0,072 - 0,115$) min^{-1} .

⁺⁾ An dieser Stelle möchte ich dem Vorstand des Pathologischen Instituts der LMU München, Herrn Prof. Dr. von Sandersleben, und seinen Mitarbeitern für die Durchführung der pathologischen und patho-histologischen Untersuchungen und die Überlassung der Ergebnisse meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Zwischen männlichen und weiblichen Individuen konnte also kein eindeutiger Unterschied in der Eliminationsgeschwindigkeit festgestellt werden. Einschränkend ist allerdings zu betonen, daß die Anzahl der untersuchten Tiere keine abschließende Beantwortung der Frage zuläßt, ob geschlechtsspezifische Unterschiede vorhanden sind.

Bei sechs Hunden wurde eine Leberbiopsie durchgeführt, sie ergab keine Hinweise auf eine Lebererkrankung. Die Serumaktivitäten der Enzyme ALT, AST, AP, G1DH und γ -GT, bzw. der Serumbilirubinspiegel aller dieser Hunde bewegten sich innerhalb der Norm.

Die niedrigste BSP-Eliminationskonstante bei einem durch Leberbiopsie gesichert lebergesunden Hund lag bei $k = 0,073 \text{ min}^{-1}$.

4.3. LC - Cholestase - Versuch

An 5 Beagle-Rüden im Alter zwischen 3 und 4 Jahren wurde ein Cholestase-Versuch mit LC durchgeführt, wie er bei Freitag (42), Knoll (74), Parrisius (104) und Winzinger (137) beschrieben ist. Vor Beginn der Fütterung mit LC wurden die Hunde gewogen, außerdem wurden klinische und labordiagnostische Untersuchungen (ALT, AST, AP, G1DH, γ -GT, SGS, ZFT und ICG-Test) und eine Leberblindbiopsie durchgeführt.

Alle fünf Hunde standen bereits vor ca. einem Jahr ebenfalls im LC-Versuch; keiner der aufgeführten Tests zeigte jedoch eine persistierende Lebererkrankung an. Allgemeinbefinden und Futteraufnahme waren ungestört, der Ernährungszustand gut bis sehr gut. Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen siehe Tab. 6.

Tab. 6: Labordiagnostische Untersuchungen und KG der 5 Beaglerüden vor Beginn der LC - Fütterung.

Hund	C	B	L	P	W
AST (U/l)	10	10	12	11	12
ALT (U/l)	18	33	29	22	32
AP (U/l)	96	185	111	107	113
γ -GT (U/l)	4,0	5,0	4,0	2,4	4,0
G1DH (U/l)	3,1	1,1	3,0	2,4	4,8
SGS ($\mu\text{g/l}$)	7,0	6,5	9,1	7,5	8,1
Bilirubin (mg/100 ml)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
ICG-Test K (min^{-1})	0,118	0,106	0,102	0,107	0,095
ZFT k (min^{-1})	0,093	0,088	0,094	0,095	0,080
KG (kg), nüchtern	16,3	15,0	18,2	13,4	13,4

Die fünf Beagles erhielten sieben Tage lang nüchtern zwischen 8.00 und 9.00 Uhr morgens jeweils 1 g LC/kg KG per os. Die LC war in Gelatine kapseln mit ca. 2,0 - 2,4 g LC pro Kapsel abgewogen; zur Erleichterung des Abschluckvorgangs wurden die Kapseln mit Paraffinöl und Wasser benetzt, die Fütterung mit handelsüblichem Dosenfutter und gekochtem Reis, handwarm dargeboten, erfolgte erst eine Stunde nach Verabreichung der LC, um eventuelle Wirkungseinbußen zu vermeiden.

Während der gesamten Versuchsdauer wurden die Hunde täglich klinisch untersucht, jeweils vor der Durchführung des ZFT erfolgten Blutentnahmen zur Bestimmung der Serumenzymaktivitäten, des Bilirubinspiegels und der Gallensäurenkonzentrationen zur Kontrolle der Ausbildung der Cholestase.

Am zweiten Tag nach Versuchsbeginn wurden die Beagles dem ZFT unterzogen, 2 Hunde, die zu diesem Zeitpunkt noch nicht positiv reagierten, wurden am 7. Tag des Versuchs, dem letzten Tag der LC-Verabreichung, nochmals getestet.

Am 5. Tag wurde zusätzlich ein ICG-Eliminationstest mit Bestimmung von K und $T_{1/2}$ durchgeführt (W a r m b i e r, 132). Der zeitliche Abstand zum ZFT wurde absichtlich relativ groß gehalten, um eine etwaige gegenseitige Hemmung der Farbstoffelimination zu vermeiden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 und den Abbildungen 5 - 7 zusammengefaßt.

Tab. 7: LC-Cholestase: ZFT, Enzymaktivitäten, Serumbilirubin und KG

Zeitpunkt	Hund	k (min ⁻¹)	Z F T T _{1/2} (min)	PAH (%)	Enzymaktivitäten (IU/l)				Bilirubin (mg/100 ml) ges. (dir.)	KG (kg)
vor Beginn der LC- Gabe	C	0,093	3,23	0	10	18	96	3,1	0,2	16,3
	B	0,088	3,42	0	10	33	185	1,1	0,2	15,0
	L	0,094	3,20	0	12	29	111	3,3	0,2	18,2
	P	0,095	3,17	0	11	22	107	2,4	0,2	13,4
3.Tag der LC-Gabe	W	0,080	3,76	0	12	32	113	4,8	0,2	13,4
	C	0,089	3,38	0	12	91	62	6,3	0,2	16,0
	B	0,097	3,10	0	11	93	112	11,8	0,2	14,2
	L	0,014	21,50	80	330	2233	1826	231,0	2,2 (1,9)	17,0
8.Tag der LC-Gabe	P	0,016	18,81	77	334	2310	979	143,0	2,9 (2,7)	13,1
	W	0,035	8,60	50	330	1969	1485	209,0	1,8 (1,3)	13,4
	C	0,018	16,72	74	118	1397	1463	51,7	2,6	15,0
	B(x)	(0,082	3,67	0)	22	1254	1463	44,4	0,2	14,0
5.Tag nach Absetzen der LC	C	0,072	4,18	0	30	503	726	58,7	0,41 (0,36)	14,8
	B(x)	(0,115	2,62	0)	12	330	493	12,8	0,36 (0,12)	13,9
	L	0,071	4,24	0	9	359	1240	7,6	0,35 (0,20)	16,4
	P	0,069	4,36	1	10	494	1090	15,1	0,45 (0,25)	12,7
23.Tag nach Ab- setzen der LC	W	0,060	5,02	14	20	382	1980	34,8	0,95 (0,70)	12,0
	C	0,101	2,98	0	11	121	328	21,0	0,2	15,2
	B(x)	(0,088	3,42	0)	8	33	119	2,3	0,2	13,4
	L	0,090	3,34	0	11	62	281	4,4	0,2	17,0
	P	0,078	3,86	0	7	29	173	2,1	0,2	13,4
	W	0,111	2,70	0	11	55	217	3,0	0,2	12,2

(x) = Proben nicht auswertbar, da hämolytisch

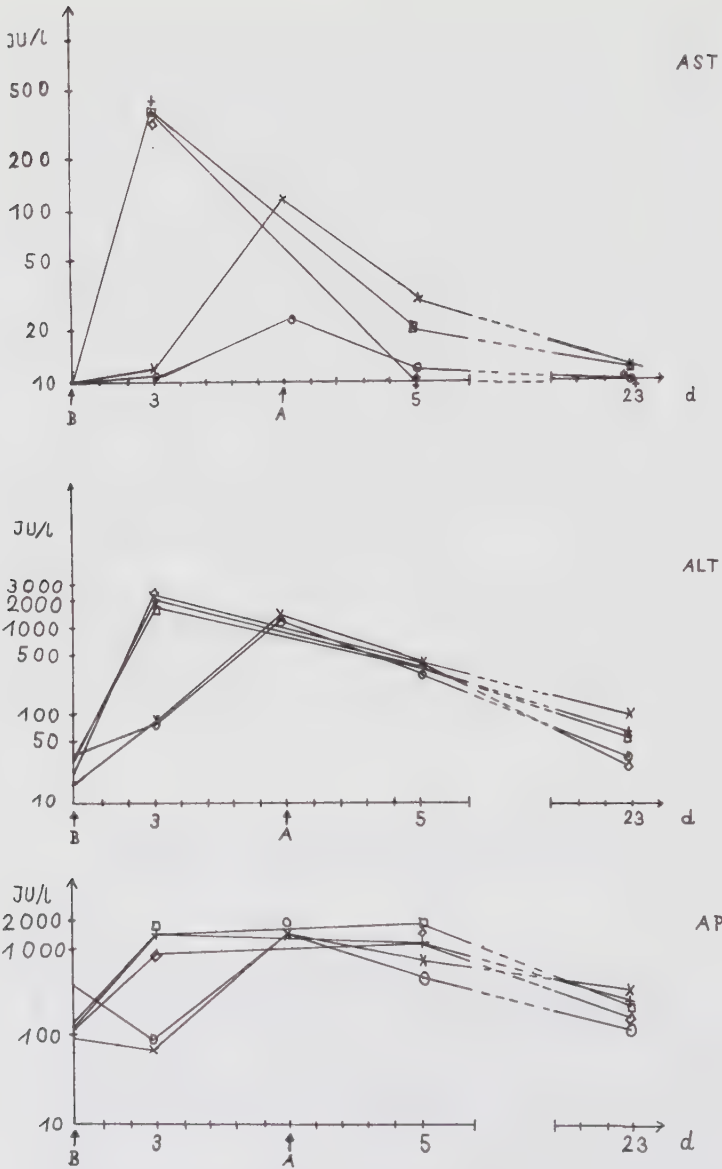


Abb. 5: Serumenzymaktivitäten von AST, ALT und AP

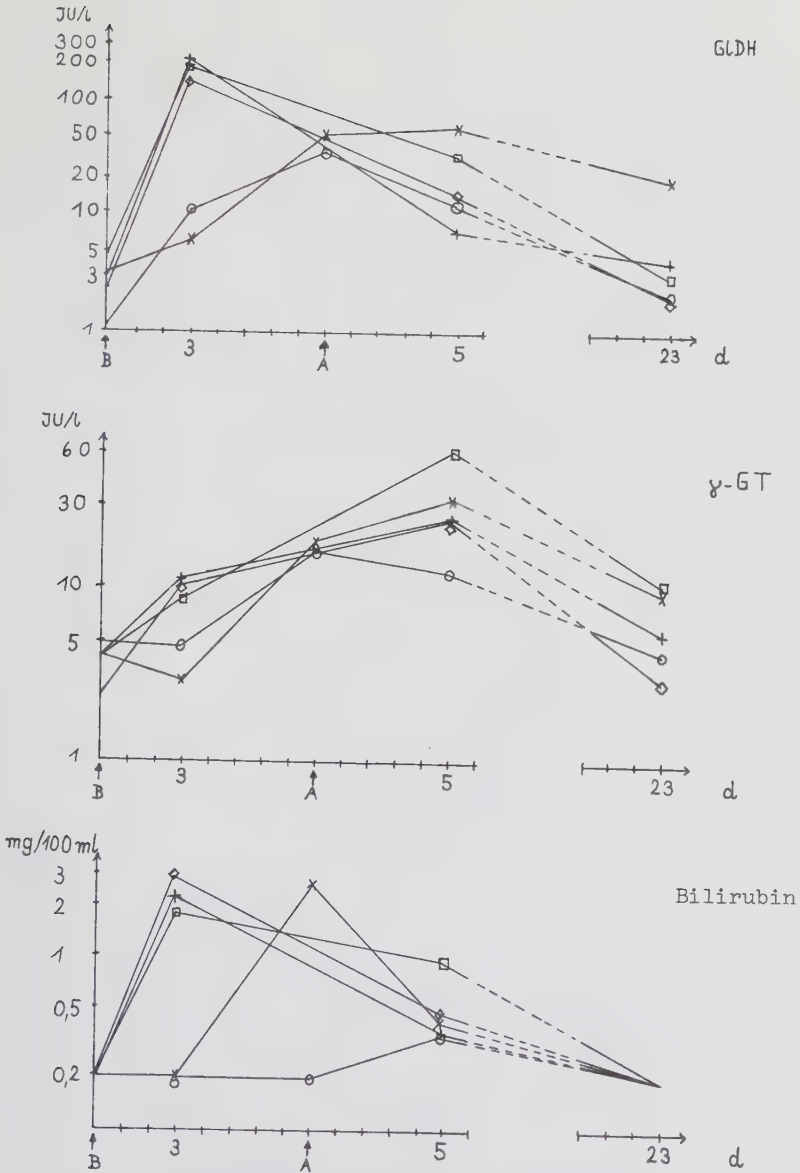
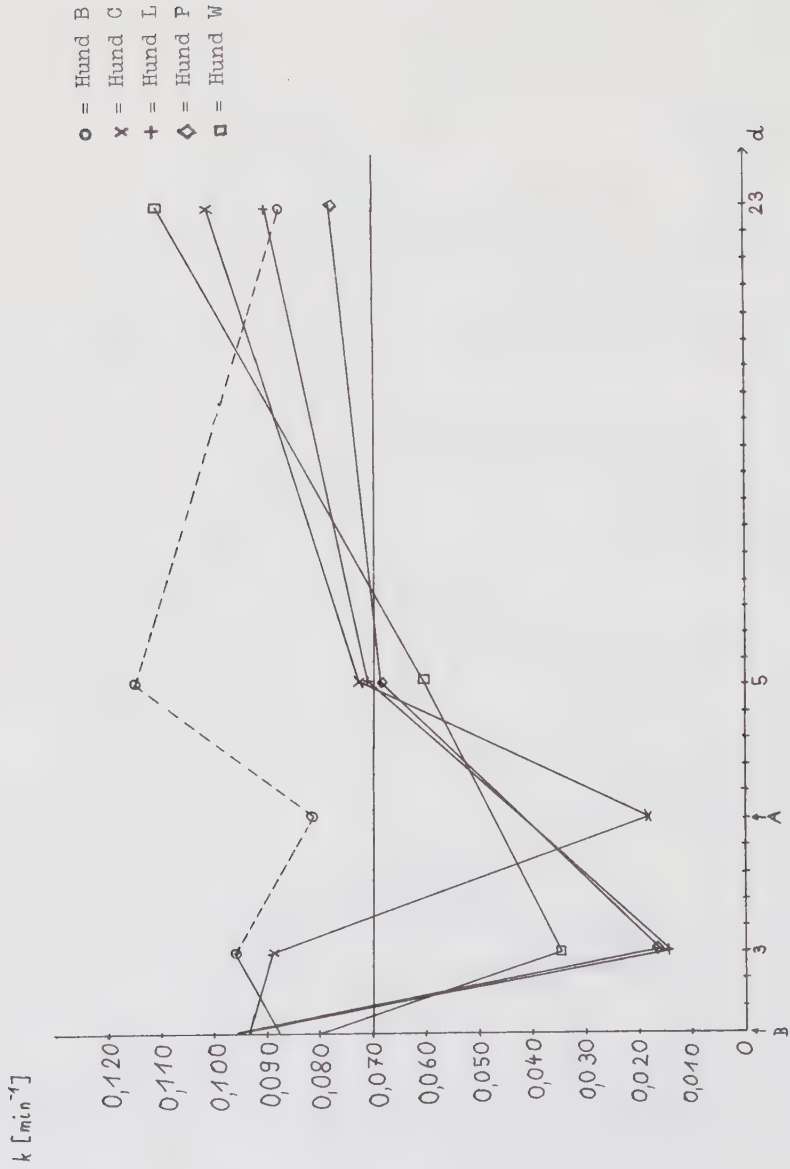


Abb. 6: Serumenzymaktivitäten von GLDH und γ -GT und Serumbilirubinkonzentrationen.



4.3.1. Enzymaktivitäten

Die AST lag bereits zwei Tage nach Versuchsbeginn bei drei Hunden (L, P, W) deutlich über der Norm, bei den beiden anderen Tieren (C, B) stieg sie am fünften Tag ebenfalls an. Alle fünf Hunde zeigten schon am ersten Tag nach Absetzen der LC wieder normale AST-Werte.

Die ALT reagierte wesentlich empfindlicher: Am dritten Tag der LC-Applikation stiegen die Aktivitäten bei den Hunden L, P und W auf ca. das 40-fache des Ausgangswertes an, bei den Hunden C und B konnte erst am fünften Tag ein deutlicher Anstieg konstatiert werden, eine leichte Aktivitätserhöhung war jedoch ebenfalls bereits am dritten Tag feststellbar. Die Aktivitäten blieben lange Zeit erhöht und kehrten auch nach Absetzen der LC nur langsam zur Norm zurück. AP- und G1DH-Aktivitäten zeigten einen gleichsinnigen, hohen Anstieg bereits am 3. Tag der LC-Gabe bei den Hunden L, P und W, C und B reagierten wiederum verzögert, wiesen jedoch am 8. Tag der LC-Gabe ebenfalls stark erhöhte AP- und G1DH-Werte auf. Wie die ALT-Aktivitäten gingen auch AP und G1DH bis zum 23. Tag nach Absetzen der LC langsam zurück, wobei die AP bei allen fünf Hunden am längsten von allen Enzymen erhöhte Aktivitäten zeigte. Die γ -GT reagierte später als die anderen Enzyme, ließ am 5. Tag nach Absetzen der LC noch einen deutlichen Gipfel erkennen und fiel bis zum 23. Tag nach Absetzen der LC zusammen mit den anderen Werten auf die Norm zurück.

4.3.2. Serumbilirubin

Am zweiten Tag der LC-Applikation konnte ein Anstieg des Serumbilirubinspiegels bei drei Hunden (L, W, P) verzeichnet werden. Vom 5. Tag nach Beginn bis zum 11. Tag nach Absetzen der LC lagen die Werte bei vier Hunden (C, L, W und P) über der Norm. Eine Ausnahme bildete Hund B: Während der gesamten Versuchsdauer stiegen die Bilirubinwerte lediglich am vierten Tag der Verabreichung auf 0,36 mg/100 ml an.

4.3.3. Sonstige Laboruntersuchungen

Am dritten Tag nach Versuchsbeginn wurden mäßig bis deutlich erhöhte SGS-Konzentrationen gemessen (zwischen 24,5 und 151,4 $\mu\text{mol/l}$). Am fünften Tag wurde ein ICG-Test durchgeführt (W a r m b i e r, 132). Die Clearance-Koeffizienten waren mit $K = 0,017$ bis $0,050 \text{ min}^{-1}$ bei allen fünf Hunden deutlich erniedrigt und die Halbwertszeiten entsprechend erhöht ($T_{1/2} = 13,9 - 40,8 \text{ min}$).

Vier Tage nach Absetzen der LC wiesen die Hunde B, L und W wieder normale ICG-Eliminationswerte auf, bei Hund C war die Ausscheidungsgeschwindigkeit noch mäßig, bei Hund P noch stark herabgesetzt, kehrte jedoch auch hier nach acht Tagen auf Normalwerte zurück.

4.3.4. Klinische Befunde

Zwischen dem fünften Tag nach Versuchsbeginn und dem dritten Tag nach Absetzen der LC war das Allgemeinbefinden der vorher sehr lebhaften Hunde C, B und L leicht gedämpft, die Futteraufnahme geringgradig beeinträchtigt. Die schwächeren Hunde W und P zeigten eine auffällige Trübung des Allgemeinzustandes und erheblich geminderten Appetit, besonders Hund P.

Ein klinisch manifester Ikterus mit Gelbfärbung der sichtbaren Schleimhäute trat bei den Hunden L, W und P ab dem dritten, bei Hund C ab dem vierten Tag nach Applikation der LC auf und bildete sich am vierten bzw. neunten Tag nach Absetzen wieder zurück. An Hund B konnte zu keinem Zeitpunkt des Versuchs ein Ikterus festgestellt werden.

Alle Hunde verloren während der Versuchsdauer an Gewicht (zwischen 1,0 und 2,5 kg).

4.3.5. ZFT

Zwei Tage nach Fütterungsbeginn zeigten zwei Hunde (L und P) extrem ($k = 0,014$, bzw. $0,016$) und ein Hund (W) stark herabgesetzte ($k = 0,035$) Farbstoffelimination; zwei weitere Hunde (C und B) re-

agierten zu diesem Zeitpunkt noch nicht auf die durch LC gesetzte Noxe ($k = 0,089$, bzw. $0,097$). Deshalb wurde an diesen beiden Hunden am siebten Tag der LC-Verabreichung nochmals ein ZFT durchgeführt. Hund C reagierte jetzt auch eindeutig positiv ($k = 0,018$), während bei Hund B aufgrund der ab jetzt auftretenden Hämolyse der ZFT nicht mehr ausgewertet werden konnte. (Der in Abbildung 7 konstruierte Kurvenverlauf wurde auf der Basis der ermittelten BSP-Werte erstellt.) Eine leichte Hämolyse persistierte bis zum Abschluß des Versuchs.

Fünf Tage nach Absetzen der LC-Gabe bestand bei Hund W noch eine mäßig beeinträchtigte Farbstoffelimination ($k = 0,060$), die k -Werte der anderen drei Hunde (C, W und P) bewegten sich um den Grenzwert von $k = 0,070 \text{ min}^{-1}$ ($k = 0,072$; $0,071$; $0,069$). Hund W und P, die noch unterhalb des Grenzwertes lagen, wurden 23 Tage nach Absetzen der LC nochmals dem ZFT unterzogen und reagierten jetzt mit k -Werten von $0,111$ bzw. $0,077$, d.h., die Farbstoffelimination war jetzt wieder in den Normalbereich zurückgekehrt.

4.3.6. Korrelation zwischen ZFT, Serumenzymwerten und Bilirubinkonzentrationen

Im Verlauf des LC-Cholestaseversuchs wurden die Korrelationskoeffizienten r zwischen den Eliminationskonstanten k der fünf Hunde mit den entsprechenden Werten der Serumenzyme und der Serumbilirubinkonzentrationen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7a aufgeführt.

Tab. 7 a: Korrelation zwischen ZFT, Serumenzymen und Bilirubin

	AST	ALT	AP	γ -GT	GLDH	Bilirubin
r	-0,83	-0,92	-0,85	-0,23	-0,79	-0,94

4.4. ZFT bei Patienten

27 Hunde mit manifester Lebererkrankung bzw. mit Verdacht auf Beteiligung der Leber am Krankheitsgeschehen wurden dem ZFT un-

terzogen, bei den Patienten Nr. 4 und 7 wurde zur Verlaufskontrolle der Test nach einigen Tagen wiederholt. Die Untersuchungsergebnisse sind im folgenden tabellarisch nach Krankheitsbildern geordnet aufgeführt. Es sind jeweils nur die krankhaft veränderten Laborwerte mit den dazugehörigen klinischen und gegebenenfalls histologischen, histopathologischen und pathologisch-anatomischen Befunden angegeben. Bei Serumenzymaktivitäten (IU/l), Serumgallensäuren- ($\mu\text{mol/l}$), Harnstoff- (mg/dl), Blutammoniakwerten (mg/dl) oder Blutzellzahlen ($\text{n}/\mu\text{l}$) bedeuten die Symbole + eine Erhöhung um bis zu 100 %, ++ um bis zu 200 % und +++ um mehr als 200 % deren Normgrenze. Die Bilirubinkonzentrationen verstehen sich als mg Gesamtbilirubin pro dl Serum, die Angaben in Klammern stellen die Werte für direktes Bilirubin dar; k (min^{-1}), $T_{1/2}$ (min) und PAH (%) geben das Ergebnis des ZFT an. Mit Ausnahme des ICG-Tests, der aufgrund der gegenseitigen Farbstoffeliminationshemmung zeitlich versetzt zum ZFT durchgeführt wurde, beziehen sich alle klinischen und labordiagnostischen Befunde auf den Tag, an dem auch der ZFT durchgeführt wurde.

Tab. 8: ZFT bei Patienten

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchung	pathol./histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
1 Späniel w.k. 9 J. 11,5kg	Inappetenz Abmagerung Herzinsuffizienz Ikterus	Hst.+++ Kreat.+++ AST + ALT +++ AP +++ CK ++ GLDH + GGT +++ Htc 25 % Hb 8,6 Bili 0,7		grobgranulierte Leber mit postnekrot.Zirrhose akute Nekrosen und entzündl. Infiltrate Glomerulonephritis, herdförm. chron. interstit. Nephritis Herzdilatation Klappenfibrose Häm siderose von Leber, Niere, Knochenmark und Lymphknoten septisches Knochenmark Lymphadenitis NNR-Hypoplasie Gutachten: Leberzirrhose u. Nephritis stehen im Vordergrund	Leber- Zirrhose, Nephritis, Anämie	0,027	11,15	61

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchung.	pathol./histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
2 Rauhhaardackel m., 10 J., 7,6 kg	Abmagerung Polydipsie Erbrechen Ikterus	AST +++ ALT +++ AP +++ GLDH +++ GGT ++ ICG: K = 0,004, T 4,2,3	Röntgen: Leber verkleinert, ungleichmäßige Struktur	ausgeprägte, grobknotige Leberzirrhose Nebenbefund: Herzdilatation Mitralfibrose	Leberzirrhose	0,018	16,7	74
3 Pudelpw., 13 J., 13,4 kg	Polydipsie Adipositas symmetr. Alopezie an den Flanken, Hepatomegalie	AP + GLDH +++ GGT ++ Leuko +	Röntgen: Umfangungsvermehr. im Abdomen, keinem Organ eindeutig zuzuordnen Laparoskopie: Tumor im Abdomen, vermutlich Lebermetastasen	Gallengangskarzinom, Metastasen in der Milz, knotige NNR-Hyperplasie, Herzdilatation Mitralfibrose	Gallengangskarzinom	0,060	5,0	14

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchg.	pathol./histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
4 Zwergschneider m. 3 1/2 J. 7,5 kg	Polydipsie Vergiftungsverdacht	AST +++ AP + GLDH +++ 7 d später AST +++ AP +++ GLDH +++ YGT ++ 5 Mon. später: AST +++ AP +++ GLDH +++		Sternzellverfettung, kleins bis großtropfige Leberzellverfettung, kein auffälliger Leberzelluntergang	Hepatopathie	0,038 7 Tage später: 0,062	7,9 7 Tage später 4,9	31 7 Tg. sp. 11
5 Bullterrier m., 12 J. 23,4 kg	Erbrechen Anorexie Polydipsie T 40°C Ikterus prall gespanntes Abdomen, schmerzhaftes Hypogastrium Hepatomegalie	Leuko +++ AST + ALT +++ AP +++ GLDH +++ YGT +++ SGS + Bili 14,6 2 Tg. später ICG: K = 0,025 T _{1/2} = 27,7	Röntgen: Duodenitis Hepatomegalie		Cholestase aufgrund von Duodenitis	0,013	23,2	76

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchg.	pathol./histol. Untersuchungen	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
6 Berner Sennen-hund m. 8 J. 42,6 kg	blutiger Durchfall, Kachexie	Leuko + AST +++ ALT +++ AP + GLDH + γGT ++ Bili 0,4	Röntgen: Passage durchgängig Leber stark vergrößert	Biopsie: starke intra-hepatische Cholestase, Lipofuszinose	intrahepatische Cholestase, hämorrhagische Enteritis	0,025	12,0	64
7 DSH 5 Mon. m. 22,9 kg	Erbrechen Diarrhoe Apathie	ALT +++ AP + GLDH + Bili 1,1 ICG-Test 2 Tg. vorher: K = 0,022 T _{1/2} = 31,5 3 Tg. später: Enzyme innerhalb der Norm			Gastroenteritis Hepatopathie	0,045 4 Tage später: 0,067	6,7 4,5	36 4
8 Belg. Schäfer-hund m. 7 Mon. 25,6 kg	Apathie Vomitus Diarrhoe	Leuko ++			Parvovirose verdacht	0,076	4,0	-

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchung	pathol./histol. Untersuchungen	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
9 Mischling 7 Mon. m. 14,5 kg	im Schock aufgefunden Polypnoe Dyspnoe Erbrechen Diarrhoe	ALT +++ AP +++ GLDH +			Gastroenteritis Verdacht auf Aspirationspneumonie	0,083	3,6	-
10 DSH m. 7 J. 23,6 kg	Abmagerung blutiger Kot, starke Anämie, laut Vorbericht 3 mal mit Östrogen behandelt Exitus nach 3 Tg.	ALT +++ AP + GLDH + VGT +++	Röntgen: Herz, Milz und Leber vergrößert	Anämie, leichter Ikterus, Blutungen in der Unterhaut, an Injektionsstellen, unter der Magenserosa, in der Prostata, in Myocard und Leberparenchym; Hämatom am linken Ellbogen, membranproliferative Glomerulonephritis, nekrotische Tubulonephrose, Pannylitis d. Knochenmarks Atrophie des lymphatischen Gewebes i.d. Milz, Hämosiderose, Prostataatrophie, multiple bis zu walnußgroße bakterielle Lebernekrosen Gutachten: Östrogenvergiftung	Östrogenvergiftung	0,028	10,8	60

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	pathol./histol. Untersuchungen	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
11 LHD w. 7 J. 7,7 kg	Aufnahme v. Schnecken- korn (Met- aldehyd) Speicheln Zittern Krämpfe	AST + AP +++ γGT +++ Bili 1,29 SGS 87,9 Leuko +++		Metalde- hydver- giftung	0,030	10,0	57
12 RHD w. 8,5 J. 8,8 kg	Polydipsie Polyurie Erbrechen schmerzhaftes Abdomen erhöhte Blutungs- neigung	AST ++ AP + GLDH ++ γGT + Bili 0,74	geringe intrahepatische Cholestase, Gallengangsproliferation hochgradige, diffuse, großtropfige Verfettung von Leberzellen, urämische Ausscheidungs- gastritis, mittelgradige Tricuspidalis- u. Mitralis- fibrose Gutachten: Leberdystrophie unklarer Genese (toxisch?)	Verdacht auf toxische Hepatose	0,030	10,0	57
13 RHD w. 12 J. 10 kg	Polydipsie Inappetenz Apathie Stammfett- sucht, diffuse Alo- pezie	ALT ++ AP +++ GLDH ++ γGT + Blz 350		Diabetes Morbus Cushing Hepato- pathie	0,042	7,2	40

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchg.	patho/histol. Untersuchg.	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
14 Mischling m. 7 J. 17,6 kg	Polydipsie Polyurie Alopezie Stammfett sucht	ALT +++ AP +++ GLDH +++ GGT +++ Bili 0,3 NH ₂ 65 ICG 9 Tg. vorher: Plattenepi- K = 0,037 T _{1/2} = 12,2	Urin: EW +++ Blut +++ spez. Gew.: 1011 Sediment: vereinzelt Plattenepithelzellen, granulierte Zylinder u. Bilirubin-nadeln, Ery + Leuko +++ Bakter. +++	fleckförmige, massive Vakuolisierung der Leberzellen, massive Glykogenspeicherung und Nester verfetteter Zellen, Einzelzelluntergang	Morbus Cushing chron. Nephritis Hepatopathie	0,062	4,9	11
15 Cocker-spaniel m. 5 J. 13,1 kg	Polydipsie Polyurie schnelles Ermüden	ALT +++ AP ++ GLDH ++ ICG-Test 1 Tg. vorher: K = 0,056 T _{1/2} = 12,4 SGS 76,22	Urin: EW +, spez. Gew. 1021 Bili ++ Sediment: vereinzelt Plattenepithelzellen, Leuko ++ Bakt. ++ granulierte Zylinder ++		Cystitis Hepatopathie	0,065	4,6	7

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchung.	patho/histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
16 DSH wk. 8 J. 43 kg	Polydipsie Polyurie Schwäche Gewichtszunahme Herzinsuffizienz, Lumbago nach 1 Mon. Euthanasie	AST + ALT +++ AP +++ GLDH ++ GT +++ SGS 55,9 Blz 62 Leuko +	EKG: P-Zacke gespalten, Knotung in R Hypovoltage Röntgen: Spondylose	generalisierter Ikterus, Blutungen in Unterhaut, Mediastinum, Pankreas, Harnblase, Urethra, Magen, Ödeme subkutan an Unterkiefer u. Kehlkopf Gutachten: Hämorrhagische Diathese, Vergiftung nicht auszuschließen, starke Autolyse	Herzinsuffizienz Hepatopathie	0,012	25,1	74
17 DSH m. 4 J. 36,8 kg	Diensthund, seit 1 Mon. völlige Leistungsschwäche	ALT +++ SGS 6,02 NH ₃ 186,2	EKG: QRS-Komplex zweigeteilt	leicht schaumiges Zytoplasma der Hepatozyten, Herz kein Zelluntergang, in Sternzellen und Gallekapillaren gelbes Pigment (Ikterus ?)	Hepatopathie	0,046	6,54	34

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchg.	patho/histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
18 RHD m. 13 J. 12 kg	kolikartige Krämpfe, Schmerz bei Harn- u. Kotabsatz, Abdomen schmerzhaft, Leber vergrößert, Herztöne nicht abgesetzt, Umfangsvermehrung im Inguinalbereich, Zervikalsyndrom	ALT ++ GLDH ++	Röntgen: Spondylose im Bereich der Halswirbelsäule		Herzdi- lata- tion Inguinal- hernie Spondylose Hepato- megalie ungeklärter Genese	0,069	4,4	1
19 DSH m. 8 J. 40 kg	Atembe-schwerden, Herztöne nicht abgesetzt, Puls 152, Prostatavergrößerung	Bili 0,3 AP ++ Leuko 35 250 Amylase ++ Lipase +++			Herzin-suffizienz pankrea-titis Prostata-hypertrophie	0,090	3,3	0

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchg.	patho/histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
20 Saluki w. 5 Mon. 11,8 kg	Diarrhoe Apathie Schleimhäute blaß, zyanotisch Kapillarfüllungszeit verzögert, Puls 164/min, hart, Herz- töne laut, pochend, verschärftes Atemgeräusch Tod nach 2 Wochen	ALT +++ AP + GLDH +++	Röntgen: Herzschatten vergrößert, stark luftgefüllte Darmschlingen Passage durchgängig EKG: Vorhofdilatation Tachykardie	multiple Leberparenchym- und kapselrupturen auf d. facies visceralis und diaphragmatica größtenteils mit Fibrin- u. Blutkoagula, Blut- ausgedehnte Blutungen i.d. Gallenblasenwand, Hämoperitonäum, Anämie, alveolares Lungenemphysem, Ödem u. Hyperämie im Anhangslappen, Vices im Endokard des linken Ventrikels, Frakturen der 7. u. 10. Rippe rechts mit Kallusbildung	Lebertrauma mit nachfolgender Hypovolämie und Lungenemphysem	0,068	4,4	3

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchg.	patho/histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
21 DSH m. 8 J. 53 kg	epileptiforme Anfälle im Abstand v. 1 - 6 Wochen	ALT ++ NH ₃ 80 NH ₄ -Belastungstest 84 µg/dl nach 30 min. SGS 9,29			Epilepsie? Hepatopathie	0,042	7,2	46
22 York-shire-terrier m. 2 J. 7,2 kg	vor 7 Mon. Intoxikationsverdacht, jetzt wieder tonische klonische Krämpfe, verstärkt bei Berührung, Schleimhäute hochrot, verwaschen, Puls hochfrequent, Leerkauen	AST +++ ALT +++ AP + CK +++	Röntgen: Milz vergrößert, Leber leicht vergrößert		Krampfanfälle	0,086	3,5	0

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchg.	patho/histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
23 Cocker-Spaniel m. 7 J. 14,8 kg	seit 5 Mon. Krampfanfälle mit Ruderbewegungen, Harn- und Kotinkontinenz, Dauer 10-20 min., zunehmende Anfalls-häufigkeit	ICG-Test K = 0,071 T _{1/2} = 9,8		Organe o.b.B.	Krampf-anfälle	0,092	3,3	0
24 Yorkshire-terrier m. 8 J. 7,7 kg	schaumiges Erbrechen Hautoberfläch-Ledko +++ che schuppig Urin: krustige, pH 7 haarlose Be- keton + zirke über d. Eiweiß +++ Körper ver- Blut +++ teilt, Haar- = 1010 kleid ver- Sediment: filzt Plattenep. Rundep.++ Leuko +++ Bakt. + hyaline Zyl. +	AP +++ NH ₃ 176 Leuko +++ Urin: pH 7 Ketone + Eiweiß +++ Blut +++ Sediment: Plattenep. Rundep.++ Leuko +++ Bakt. + hyaline Zyl. +	Röntgen: Leber- schatten stark vergrößert, Prostata vergrößert	Leberbiopsie: Leukos in Sinuskapillaren Sternzellhämosiderose, kein auffälliger Befund an Hepatozyten, RSH-Aktivierung bei Entzündung	Hepato-megalie	0,080	3,8	0

Tab. 8, Fortsetzung

Hund	klinischer Befund	Labor	ergänzende Untersuchg.	patho/histol. Untersuchung	Diagnose	k (min ⁻¹)	T _{1/2} (min)	PAH (%)
25 RHD m. 6 J. 7,8 kg	Dackellähme, sehr große Leber (Palmation)	o.b.B.	Röntgen: Hepatomegalie, Diskopathie HWS 5/6/7 LWS 3/4/5/6		Hepatomegalie, Diskopathie	0,095	3,2	0
26 DSH m. 2 J. 28,4 kg	Ulzerationen und Erytheme im ventralen Halsbereich Liegebeule am Sternum	o.b.B.		Hautbiopsie: chronisch rezidivierende Dermatitis und Follikulitis, Pyodermie	Dermatitis Pyodermie	0,089	3,4	0
27 Deckelmischling m. 3 J. 10 kg	Hautgeschwür-Leuko unter Krustenbildung abheilend, Kachexie	Leuko +++ AP ++			Panniculitis non suppurativa	0,110	2,7	0

5. DISKUSSION

5.1. Werte lebergesunder Hunde

Die 17 untersuchten "gesunden" Hunde befanden sich im Besitz der I. Medizinischen Tierklinik der Universität München und wurden unter ständiger medizinischer Kontrolle und gleichbleibenden Bedingungen gehalten. Klinische Untersuchung, Bestimmung der Serumenzymaktivitäten der "leberspezifischen" Enzyme und des Serumbilirubinspiegels sowie bei sechs Hunden die Leberbiopsie bestätigten den einwandfreien Gesundheitszustand der Tiere.

Im ZFT lag bei diesen 17 Hunden die durchschnittliche Eliminationskonstante mit $k = 0,096 \pm 0,015 \text{ min}^{-1}$ etwas höher, als sie bei M i e l k e (93) mit $k = 0,084 \text{ min}^{-1}$ beschrieben ist. Entsprechend waren die ermittelten Werte für die Halbwertszeit $T_{1/2}$ mit $3,14 \pm 0,43 \text{ min}$ geringfügig niedriger als bei M i e l k e. Allerdings muß hierbei berücksichtigt werden, daß die Zahl der untersuchten Hunde relativ gering ist. Es sollte jedoch auch nicht Gegenstand dieser Arbeit sein, Mittelwerte für k bei gesunden Hunden zu erstellen, sondern die Tauglichkeit des Tests zur Beurteilung von Leberkrankheiten des Hundes zu überprüfen.

Die Streubreite für k war mit 0,072 bis $0,119 \text{ min}^{-1}$ gering, ein geschlechtsspezifischer Unterschied in der Eliminationsfähigkeit für BSP fiel nicht auf. Der Mittelwert für k betrug für Rüden $0,096 \pm 0,016 \text{ min}^{-1}$ (0,073 bis $0,119 \text{ min}^{-1}$), für Hündinnen $0,096 \pm 0,038 \text{ min}^{-1}$ (0,072 bis $0,115 \text{ min}^{-1}$).

5.2. Ermittlung des Grenzwertes zwischen "lebergesund" und "leberkrank"

Bislang ist nur eine Veröffentlichung in der Literatur zu finden, die einen Grenzwert zwischen normalen und krankhaft veränderten k -Werten angibt: M i e l k e legte ihn in seiner Veröffentlichung bei $k = 0,065$ fest (93); sein Grenzwert unterscheidet sich nur we-

nig von dem für den BSP-Test ermittelten ($k = 0,070$). Er stellt fest, daß der BSP-Farbstoff in der ZFT-Lösung etwas langsamer ausgeschieden wird als die reine BSP-Lösung.

Die übliche Berechnung von Referenzwerten in statistischen Auswertungsverfahren durch Addieren bzw. Subtrahieren der zweifachen Standardabweichung vom Mittelwert ergab Grenzwerte von $k = 0,066$ bzw. $k = 0,020$, die beide nicht oder nur annähernd mit den empirisch ermittelten Grenzen übereinstimmten.

Die folgende Graphik (Abb. 8) soll dies verdeutlichen.

Die Verteilung der Clearance-Koeffizienten aller gesunden und der pathologisch-histologisch oder klinisch und labordiagnostisch gesichert leberkranken Hunde ist hier dargestellt. Der niedrigste k -Wert bei einem durch Leberbiopsie gesichert lebergesunden Hund lag bei $k = 0,073$, der höchste k -Wert eines gesichert leberkranken Hundes (Patient Nr. 18) bei $k = 0,068$.

In keinem einzigen Fall überschritten sich die Clearance-Koeffizienten von kranken und gesunden Hunden; so konnte eine empirisch ermittelte Grenze bei $k = 0,070$ angenommen werden.

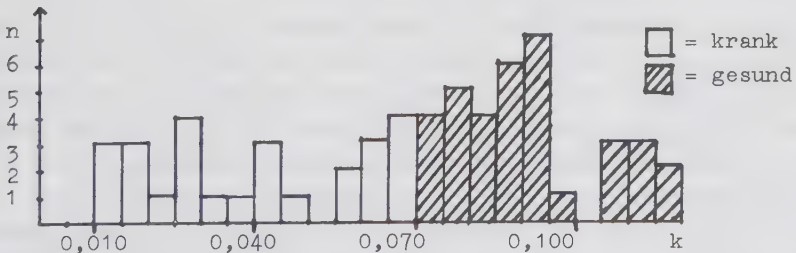


Abb. 8: k -Wert-Verteilung gesunder und leberkranker Hunde

Der so ermittelte Grenzwert für den Clearance-Koeffizienten liegt geringfügig über dem von M i e l k e für den ZFT beschriebenen Wert von $k = 0,065$ (91), stimmt jedoch mit dem vom gleichen Autor für den BSP-Test bestimmten Grenzwert überein (90). Inwieweit Differenzen in der Eliminationsfähigkeit der Hundeleber für reines BSP und BSP in der ZFT-Lösung bestehen, kann hier nicht beurteilt werden, da nicht beide Tests gleichzeitig durchgeführt werden konnten.

5.3. Werte bei Hunden, die einem LC-Cholestase-Versuch unterzogen wurden

Die Ausgangswerte für k vor der Durchführung des Cholestase-Versuchs bei den fünf Beaglerüden lagen bei $0,090 \pm 0,006$.

Am dritten Tag der LC-Applikation reagierten bereits drei Hunde (L, P und W) mit über 70 % erniedrigten k -Werten bei der Farbstoff-Eliminationsprobe. Entsprechend waren die Enzymaktivitäten von AST, ALT, AP, GLDH und γ -GT und die Serumbilirubinkonzentrationen stark erhöht (s. Tab 7); diese Hunde zeigten auch die höchsten SGS-Konzentrationen am dritten Versuchstag.

Die Hunde C und B reagierten weder im ZFT noch in den Enzymaktivitäten, bzw. Bilirubinkonzentrationen eindeutig auf die Cholestase-induzierende LC. Auch die SGS zeigten keine Ausscheidungsstörungen an. Diese beiden Beagles wurden deshalb am achten Tag des Versuchs nochmals getestet. Hund C zeigte nunmehr deutlich positive "Leberwerte", die entstandene Leberfunktionsstörung kam jetzt auch im ZFT klar zum Ausdruck.

Da die Serumproben bei Hund B vom achten Tag ab bis zum Abschluß des Versuches (23 Tage nach Absetzen der LC) stark bis mäßig hämolytisch waren, kann Beagle B nicht in die Auswertung des ZFT einbezogen werden.

Fünf Tage nach Absetzen der LC lag nur noch Hund W mit $k = 0,060$ unterhalb des Grenzwertes, die Beagles C, L und P eliminierten die ZFT-Lösung bereits wieder mit normaler Geschwindigkeit, allerdings befanden sich ihre k -Werte noch im Grenzbereich.

Das klinische Bild und die restlichen Laboruntersuchungen bestätigten die aus dem ZFT gewonnene Annahme, daß Beagle W am schwersten

erkrankt war.

Der Anstieg und Verlauf der Enzymaktivitäten während der Testdauer entsprachen im Wesentlichen dem Verhalten, das von Winzinger, Freitag und Knoll (137, 42, 74) beschrieben wurde; Es kann also davon ausgegangen werden, daß die Ausbildung einer intrahepatischen Cholestase in der vorliegenden Untersuchung entsprechend den früheren Versuchen gelungen ist.

Die beiden schwächsten Hunde der Gruppe, P und W, benötigten in Übereinstimmung mit dem ZFT-Ergebnis auch die längste Zeit zur Rekonvaleszenz. Sie zeigten auch die höchsten SGS-Werte am dritten Versuchstag. Hund C wies zwar noch relativ lang erhöhte Serumenzymwerte auf, die klinischen Befunde besserten sich jedoch vor P und W.

Korrelation zwischen ZFT und Serumenzymaktivitäten

Bei LC-induzierter Cholestase wurden die Korrelationen zwischen ZFT und den sog. leberspezifischen Enzymen bzw. Bilirubin ermittelt. Erwartungsgemäß waren die k-Werte des ZFT negativ mit den Serumenzymaktivitäten, bzw. Bilirubinwerten korreliert.

AST ($r = -0,83$), ALT ($r = -0,92$) und G1DH ($r = -0,79$), also Enzyme, deren Anstieg im Serum Desintegration der Zellmembranen bzw. Hepatozytennekrosen anzeigen, sowie Bilirubin ($r = -0,94$), ein Indikator für den Funktionszustand der Leber, zeigten eine sehr hohe negative Korrelation zu den ermittelten k-Werten des ZFT.

Die AP ($r = -0,85$), ein cholestase-anzeigendes Enzym, stieg ebenfalls mit abnehmenden k-Werten an. Lediglich die g-GT zeigte mit $r = -0,23$ eine schlechte Korrelation zu k.

Eine Erklärung dafür dürfte die zeitlich verzögerte Reaktion dieses Serumenzyms auf stattgefundene Zellschädigung bzw. Cholestase sein. Wie in der Literatur beschrieben (76, 77, 107), steigen die Serumaktivitäten dieses Enzyms auch nur unregelmäßig nach stattgefundener Zellschädigung an, eine Tatsache, die in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden konnte. Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß der ZFT die Ausbildung und den Verlauf der LC-induzierten Cholestase in Übereinstimmung mit dem klinischen Bild

und den untersuchten Serumenzymaktivitäten frühzeitig und exakt nachweisen konnte.

5.4. Der ZFT bei Patienten mit Erkrankungen der Leber und/oder anderer Organsysteme

Im folgenden werden nach Krankheitsbildern geordnet die klinisch manifest erkrankten Hunde besprochen. In der Literatur sind bislang nur sechs Fälle von spontaner Hepatopathie bei Hunden beschrieben (27), bei denen auch ein ZFT durchgeführt wurde.

Die Ergebnisse des ZFT werden hierbei in Form der Eliminationskonstanten k , der Halbwertszeit $T_{1/2}$ und der PAH (= pathologische Ausscheidungshemmung) ausgedrückt.

Der Begriff der PAH wurde von Z i m m e r in die Humanmedizin eingeführt (106, 108, 136, 142) und von M i e l k e für die Veterinärmedizin übernommen (93).

Für die Bestimmung der PAH geht man von einem Grenzwert für die Eliminationskonstante k aus. Dieser Wert, der eine funktionell ausreichende Leberleistung anzeigt, entspricht einer PAH von 0 %. Ein vollkommenes Sistieren der BSP-Ausscheidung ($k = 0,000$) wird mit einer PAH von 100 % gleichgesetzt.

Diese Umrechnung von k auf PAH soll dem Kliniker eine deutlichere Vorstellung vom Ausmaß der Funktionsbeeinträchtigung vermitteln, als dies absolute Werte von Eliminationskonstanten oder Halbwertszeiten ermöglichen, die immer die Kenntnis von Grenzwerten voraussetzen.

Z i m m e r erwähnt in seiner Dissertation (142) auch noch den Begriff der Leberleistung, der sich aus folgender Formel errechnet: Leberleistung = $100 \% - \text{PAH (in \%)}$. Dieser Begriff konnte sich jedoch nicht durchsetzen.

In Tabelle 8 und für die folgende Diskussion der klinischen Fälle wurde von einem Grenzwert für k von 0,070/min ausgegangen, der geringfügig über dem von M i e l k e ermittelten Wert von $k = 0,065$ liegt. Entsprechend fallen die PAH-Werte in dieser Untersuchung etwas höher aus. Klinische Untersuchungsbefunde sowie Labor- und ergänzende Untersuchungen sind ebenfalls in Tabelle 8 aufgelistet.

5.4.1. Leberzirrhose

Bei Patient Nr. 1 zeigte der ZFT mit $k = 0,027$ und einer PAH von 61 % die schwere Funktionsbeeinträchtigung der Leber an.

Aufgrund des sich ständig verschlechternden Allgemeinbefindens mußte der Hund euthanasiert werden.

In der pathologischen und patho-histologischen Untersuchung wurde unter anderem eine ausgeprägte Leberzirrhose festgestellt, die in Übereinstimmung mit dem klinischen Bild und den Laboruntersuchungen das Ergebnis des ZFT bestätigte.

Patient Nr. 2 mit grobknotiger Leberzirrhose eliminierte das BSP der ZFT-Lösung noch langsamer als Patient Nr. 1 ($k = 0,018$, $T_{1/2} = 16,7$ min, PAH = 74 %). Die Farbstoff-Eliminationsprobe konnte auch in diesem Falle die erhebliche Leberfunktionsstörung aufzeigen, die infolge der herabgesetzten Leberdurchblutung und Abnahme der Zahl der funktionstüchtigen Hepatozyten bei fortschreitendem zirrhotischen Umbau des Organs entsteht.

Beide Patienten befanden sich im Endstadium einer "dekompensierten" Leberzirrhose, die Prognose mußte demzufolge als infaust bezeichnet werden.

5.4.2. Lebertumor

Bei einer dreizehnjährigen Pudelhündin konnte anlässlich der klinischen und röntgenologischen Untersuchung eine Umfangsvermehrung im Abdomen diagnostiziert werden, jedoch waren auch nach der daraufhin durchgeführten Laparoskopie die tumorösen Veränderungen in der Bauchhöhle nicht mit Sicherheit einem bestimmten Organ zuzuordnen. Im ZFT wurde eine deutliche Beeinträchtigung der Leberfunktion auffällig ($k = 0,060$, PAH = 14 %), es lag also Verdacht auf eine Beteiligung der Leber am Krankheitsgeschehen vor.

Der ZFT konnte in diesem Fall bereits etwa zwei Monate vor der endgültigen Dekompensation eine Leberschädigung eindeutig nachweisen. Die SGS-Werte und Serumbilirubinkonzentrationen bewegten sich zu diesem Zeitpunkt noch innerhalb der Norm (s. Tab. 8).

Leider war es nicht möglich, eine Verlaufskontrolle der Erkrankung durchzuführen, da der Hund erst zwei Monate später aufgrund des sich

zunehmend verschlechternden Allgemeinbefindens zur Euthanasie vorgestellt wurde.

Die Sektion ergab folgenden Befund: Massive, klein- bis grobknotige tumoröse Durchsetzung und Schwellung der Leber, erbsengroße Metastasen in der Milz, knotige Nebennierenrindenhyperplasie, mäßige Mitralfibrose und Dilatation des linken Vorhofes.

Histologisch imponierten die tumorösen Veränderungen als knotig wachsendes anaplastisches Adenokarzinom vom Typ eines Gallengangskarzinoms.

5.4.3. Fettleber

Patient Nr. 4, ein männlicher, 3 1/2-jähriger Zwergschnauzer, wurde wegen einer bereits monatelang andauernder Polydipsie stationär aufgenommen. Neun Monate zuvor war derselbe Hund ambulant wegen Vergiftungsverdacht in Behandlung gewesen.

Der ZFT zeigte mit einem k-Wert von 0,038 (PAH = 46%) eine deutliche Leberfunktionsstörung an. AST, ALT, AP- und G1DH-Werte bestätigten diese Vermutung. Die Untersuchung einer Leberbiopsieprobe ergab Anzeichen für Sternzell- und klein- bis großfleckige Leberzellverfettung; Parenchymbau oder auffälliger Leberzelluntergang konnten nicht diagnostiziert werden.

Auf die eingeleitete Therapie besserten sich Allgemeinbefinden und "Leberenzymwerte". Bereits sieben Tage später eliminierte die Leber das BSP der ZFT-Lösung wesentlich schneller ($k = 0,062$, PAH = 11%), der Hund konnte "gebessert" entlassen werden.

Fünf Monate nach diesem Klinikaufenthalt wurde bei einer Kontrolluntersuchung die weitere Normalisierung der Leberenzymaktivitäten festgestellt, sie bewegten sich jedoch noch eindeutig über den in der Literatur angegebenen Normwerten. Ein Residualschaden ist also nicht auszuschließen; das Allgemeinbefinden des Patienten war jedoch zu diesem Zeitpunkt ungestört.

In diesem Falle konnte mit Hilfe des ZFT eine genaue Verlaufskon-

trolle durchgeführt werden, die Ursache der Leberverfettung war jedoch retrospektiv nicht feststellbar.

5.4.4. Magen-Darm-Erkrankungen mit bzw. ohne Hepatopathie

Patient Nr. 5, ein 12-jähriger männlicher Bullterrier, wurde mit den Symptomen Erbrechen, Anorexie und Polydipsie eingeliefert. Die klinische Untersuchung ergab folgende Befunde: Körpertemperatur $40,0^{\circ}\text{C}$, stark beeinträchtigtes Allgemeinbefinden, hochgradiger Ikterus, prall gespanntes Abdomen mit geringgradig schmerzhaftem Hypogastrium und palpatorisch vergrößerter Leber. Stark erhöhte Leukozytenzahl mit Linksverschiebung, Anstieg der Leberenzym-, SGS- und Bilirubinwerte imponierten bei den Laboruntersuchungen. Nach Darstellung des Abdomens im Röntgenbild und mit Kontrastmittelpassage konnten Duodenitis und Hepatomegalie diagnostiziert werden. Sowohl im ZFT ($k = 0,013$, $T_{1/2} = 23,2$ min, PAH = 76%), als auch im ICG-Test zwei Tage später ($K = 0,025$, W a r m b i e r, 132) reagierte der Patient mit einer extrem beeinträchtigten Ausscheidungsleistung der Leber auf exogen zugeführte Farbstoffe.

Es ist anzunehmen, daß es aufgrund der massiven Duodenitis zu einer mechanischen Verlegung der galleableitenden Wege und dadurch rückwirkend zu der entsprechenden Cholestase gekommen war. Nach erfolgreicher Therapie der Duodenitis klangen auch die Cholestase-Symptome ab, und der Hund konnte gebessert entlassen werden.

Ein 8-jähriger männlicher Berner Sennenhund (Nr. 6), bei dem zunächst Verdacht auf Ileus bestand, wurde wegen hämorrhagischer Enteritis aus der Chirurgischen Tierklinik in die Medizinische Klinik überwiesen.

Die Darmpassage war durchgängig, die Leber stark vergrößert; Leukozytenzahl, Leberenzymaktivitäten und Bilirubinwerte waren mäßig bis stark erhöht.

Der ZFT zeigte mit $k = 0,025$, $T_{1/2} = 12$ min und PAH = 64 % eine deutlich reduzierte Leberfunktion an.

Die daraufhin durchgeführte Biopsie und histologische Untersuchung des Leberpunktats ergab folgende Befunde: Starke intrahepatische Cholestase, feinvakuoläre Beschaffenheit der Leberzellen, Lipo-

fuszinose.

Nach Ausheilung der Enteritis wurde der Hund als geheilt entlassen.

Bei einem fünf Monate alten Schäferhundrüden (Nr. 7) mit den klinischen Symptomen Erbrechen, Diarrhoe, Apathie und Ikterus wurde aufgrund erhöhter Bilirubin- und Leberenzymwerte (ALT, GLDH, AP) und verminderter ICG-Ausscheidung ($k = 0,022/\text{min}$) der ZFT durchgeführt. Die Erstuntersuchung mit dem ZFT vier Tage nach der stationären Aufnahme brachte folgendes Ergebnis: $k = 0,045$, $T_{1/2} = 6,7 \text{ min}$, PAH = 36 %.

Vier Tage später wurde der Therapieerfolg überprüft (Glukoseinfusion, antibiotische Versorgung). Die nunmehr beschleunigte Ausscheidung der ZFT-Lösung ($k = 0,067$, $T_{1/2} = 4,5 \text{ min}$, PAH = 4 %) stimmte mit dem deutlich gebesserten Allgemeinbefinden des Patienten überein; er konnte einen Tag später als geheilt entlassen werden. Lediglich eine leichte Erhöhung der AP deutete noch auf die vorausgegangene Leberschädigung hin, die wohl als Folge der Gastroenteritis zu werten ist.

Der ZFT war also in den Fällen 4 und 7 in der Lage, eine Verlaufskontrolle des Krankheitsgeschehens in Übereinstimmung mit klinischem Bild und Laboruntersuchungen zu liefern. Die Eignung der BSP-Elimination zu derartigen Studien wurde ja bereits mehrfach in der Literatur beschrieben (91, 142, 143, 144).

Patient Nr. 8, ein männlicher, 7 1/2 Monate alter Belgischer Schäferhund mit Apathie, Vomitus, hämorrhagischer Diarrhoe und stark beeinträchtigtem Allgemeinbefinden, wurde aufgrund des Verdachts auf Parvovirose stationär aufgenommen.

Auf die sofort eingeleiteten Therapiemaßnahmen (Infusion von Plasmaexpandern, Elektrolyten, Glucose, Gabe von Carbo medicinalis, sowie systemische Verabreichung von Antibiotika und Spasmolytica) besserte sich das Allgemeinbefinden rasch.

Der vier Tage nach Krankheitsbeginn durchgeführte ZFT konnte keine Leberschädigung nachweisen ($k = 0,076$, $T_{1/2} = 4,0 \text{ min}$); der Patient konnte bei gutem Allgemeinbefinden als "geheilt" entlassen werden.

Ein ca. 6 - 7 Monate alter Mischling wurde im Schock aufgefunden, der Besitzer war nicht zu ermitteln, vermutlich wurde der Hund aus-

gesetzt. Eine starke Dyspnoe sowie deutliches Knisterrasseln bei der Lungenausku­ltation legten den Verdacht auf Pneumonie nahe, zudem wurde eine hämorrhagische Gastroenteritis diagnostiziert. AST, ALT und AP waren zu diesem Zeitpunkt auf ca. 20 bis 50fache Werte erhöht. Die eingeleitete Therapie (Infusion, antibiotische und spasmolytische Medikation) führte zur alsbaldigen klinischen Besserung. Vier Tage nach stationärer Aufnahme wurde die Leberfunktion mit Hilfe des ZFT überprüft; es ergab sich normale Farbstoffelimination ($k = 0,083$, $T_{1/2} = 3,6$). Die Leberenzymaktivitäten waren zu diesem Zeitpunkt bereits auf 1/10 der Ausgangswerte zurückgekehrt, lediglich ALT und AP lagen noch über der Norm. Die Serumgallensäuren ($11,04 \text{ mol/l}$) lieferten keinerlei Hinweise auf einen Gallestau. Der Hund konnte als geheilt entlassen werden.

Zusammenfassend kann bei dieser Patientengruppe folgender Schluß gezogen werden: Die ersten drei Hunde (Nr. 5, 6 und 7) wiesen wohl aufgrund der vorausgegangenen Schädigung des Gastrointestinaltraktes eine mechanische und/oder toxisch bedingte Störung der Ausscheidungsfunktion der Leber auf, die sich jedoch mit Ausheilung der Primärerkrankung alsbald verbesserte (s. Nr. 7). Patient Nr. 8 (Parvoviroseverdacht) zeigte im Verlauf der Erkrankung keinerlei Funktionsbeeinträchtigung der Leber. ZFT und die "leberspezifischen" Enzyme reagierten innerhalb der Norm. Besonders gelagert ist allerdings Fall Nr. 9: Stark erhöhte Serumwerte von AST, ALT und AP zeigten zwar eine enzymatisch meßbare Hepatopathie an, im ZFT jedoch konnte eine Störung der Ausscheidungsfunktion des Gesamtorgans nicht nachgewiesen werden. Eine Überprüfung dieses Ergebnisses mit Hilfe von Bilirubin- und SGS-Bestimmung lieferte ebenfalls keinen Hinweis auf eine Leberaffektion.

5.4.5. Vergiftungen

Eine 7-jährige Schäferhündin (Nr. 10) mit Östrogenvergiftung (iatrogen) zeigte neben sehr starker Anämie und Leukozytose einen nur verhältnismäßig geringen Anstieg der Leberenzyme, die SGS waren nicht erhöht. Der ZFT wies mit $k = 0,028$ und einer PAH von 60% jedoch eindeutig auf die Leberbeteiligung hin. Nach vier Wochen kam es neben

der anhaltenden Anämie zu einem massiven Leuko- und Thrombozytensturz, zwei weitere Tage später starb der Hund. Ob die im pathologischen Befund beschriebenen Lebernekrosen zum Zeitpunkt des ZFT vier Wochen ante mortem bereits manifest waren, läßt sich nicht klären, jedoch lag bereits zu diesem Zeitpunkt eine schwere Funktionsbeeinträchtigung der Leber vor, die im ZFT nachgewiesen werden konnte.

Die Aufnahme von Schneckenkorn (Metaldehyd, 5,4 %ig) führte bei einem 7-jährigen Langhaardackel (Nr. 11) zu starken Vergiftungserscheinungen. Leberenzyme und Bilirubinwerte waren mäßig bis stark erhöht, im ZFT war eine erhebliche Beeinträchtigung der hepatischen Ausscheidungsfunktion zu verzeichnen: $k = 0,030$, PAH = 57 %.

Der Zustand des Patienten besserte sich nur sehr langsam, und noch nach sechs Wochen deuteten die Laboruntersuchungen darauf hin, daß der Regenerationsprozeß dieses Organs noch nicht abgeschlossen war. Eine bleibende Leberschädigung war zum Abschluß der Untersuchungen nicht auszuschließen.

Eine Rauhaardackelhündin (Nr.12) mit toxischer Hepatose unklarer Genese und erhöhter Blutungsneigung wies trotz relativ niedriger Serumenzymwerte im ZFT eine erhebliche Eliminationshemmung auf ($k = 0,030$, PAH = 57 %). Das Allgemeinbefinden verschlechterte sich zunehmend, und der Patient starb einige Tage nach Einlieferung in die Klinik. Pathologisch-histologisch imponierten eine intrahepatische Cholestase, Gallengangsproliferation und starke Verfettung der Hepatozyten. Die mittelgradige Tricuspidalis- und Mitralisfibrose mit der daraus resultierenden Herzinsuffizienz dürften jedoch nicht die Todesursache gewesen sein. Im pathologischen Gutachten wurde die Leberdystrophie eindeutig in den Vordergrund gestellt. Es ist zwar vorstellbar, daß aufgrund der herabgesetzten Herzleistung die Leberdurchblutung gedrosselt wurde und es so zu einer Hypoxie in den Hepatozyten kommen konnte; die hochgradige, diffuse Verfettung jedoch ist wohl eher auf eine Noxe im Sinne einer Intoxikation zurückzuführen.

Alle drei o.a. Fälle mußten hinsichtlich der gravierenden Funktionsbeeinträchtigung des Entgiftungsorgans Leber im ZFT als ernst

eingestuft werden. Die Leberenzymaktivitäten konnten ebenso wie die Serumbilirubinwerte nicht regelmäßig die starke Schädigung des Organes anzeigen. Zwei der aufgeführten Patienten starben, da die Regenerationsfähigkeit der Leber nicht ausreichte, eine normale Funktion wiederherzustellen.

5.4.6. Cushing-Syndrom

Bei dieser Erkrankung kommt es unter Glukokortikoideinwirkung im Anfangsstadium zu einer erhöhten Glykogenspeicherung in den Hepatozyten, die bei Fortbestehen der Krankheit ohne therapeutisches Eingreifen durch klein- bis großtropfige Zellverfettung abgelöst wird. In der Folge können auch fokale Zellnekrosen auftreten (72).

Je nach Stadium und Ausmaß der Stoffwechselstörung, bzw. des Verlustes der normalen Zellfunktion vermag der ZFT den Grad der Störung einzustufen.

Patient Nr. 14, der zusätzlich noch an einer chronischen Nephritis litt, befand sich offensichtlich erst im Anfangsstadium der Erkrankung ($k = 0,062$; PAH = 11 %), wie auch die patho-histologische Untersuchung eines Leberpunktates bestätigte.

Patient Nr. 13 eliminierte im Gegensatz dazu den Farbstoff wesentlich langsamer ($k = 0,042$; PAH = 40 %), bei ihm bestand außerdem noch ein Diabetes (Steroiddiabetes). Leider war hier eine Leberbiopsie nicht möglich, da das Einverständnis des Besitzers fehlte, jedoch ist anzunehmen, daß bei diesem Hund die Leberschädigung schon weiter fortgeschritten war. Beide Patienten konnten unter Therapie mit der Empfehlung zur regelmäßigen tierärztlichen Überwachung als gebessert entlassen werden.

5.4.7. Cystitis

Bei einem 5-jährigen Cocker-Spaniel (Nr. 15) mit Cystitis kam bei den Laboruntersuchungen der Verdacht auf, daß zusätzlich eine Hepatopathie vorliegen könnte. Ein daraufhin durchgeführter ICG-Test bestätigte diese Vermutung, und auch der ZFT reagierte leicht positiv ($k = 0,065$; PAH = 7 %). Die Annahme, daß eine geringgradige Cholestase vorliegen mußte, bestätigten auch die SGS-Werte.

Die Ursache dieser Hepatopathie konnte jedoch nicht eindeutig abgeklärt werden. In Frage käme unter Umständen eine Arzneimittelunverträglichkeit im Zusammenhang mit der Therapie der Cystitis, es ist aber ebenso denkbar, daß im Laufe der Infektion eine Affektion der Leber stattgefunden hatte.

5.4.8. Herzinsuffizienz

Die folgenden vier Hunde (Nr. 16 - 19) zeigten alle das klinische Bild einer Herzinsuffizienz unterschiedlichen Grades mit mäßig bis stark erhöhten Leberenzymwerten.

Patient Nr. 16 ($k = 0,012$; PAH = 74 %) mußte einen Monat später euthanasiert werden. Aufgrund der pathologischen Untersuchung (generalisierter Ikterus und hämorrhagische Diathese) war eine Vergiftung als Krankheitsursache nicht auszuschließen. Wegen starker Autolyse des gesamten Tierkörpers konnte keine histologische Untersuchung mehr durchgeführt werden, so daß leider kein Befund über die Gewebeveränderungen in der Leber vorliegt.

Ein im Schutzdienst eingesetzter Schäferhund zeigte ebenfalls eine Herzinsuffizienz, die seine Dienstauglichkeit erheblich beeinträchtigte; die Farbstoff-Eliminationsleistung war mit $k = 0,046$ und einer PAH von 34 % dementsprechend herabgesetzt (Nr. 17).

Bei dem Rauhaardackel Nr. 18 war die Herzinsuffizienz noch nicht so stark ausgeprägt, daß es zu einer derart verminderten Leberdurchblutung gekommen wäre, um eine Hypoxie und als Folge davon eine fettige Degeneration der Hepatozyten zu bewirken. Die Eliminationskonstante k mit 0,069 bewegte sich im Grenzbereich, die daraus resultierende PAH von 1 % war daher sehr gering. Die zusätzlich bestehende Inguinalhernie und Spondylose im Halswirbelbereich kann mit dem oben geschilderten Krankheitsbild nicht in Zusammenhang gebracht werden.

Patient Nr. 19 dagegen zeigte trotz bestehender Herzinsuffizienz, Pankreatitis und Prostatahypertrophie keinerlei Anzeichen einer Eliminationsstörung ($k = 0,090$).

Resumierend kann also festgestellt werden, daß es nur dann zu einer eingeschränkten Farbstoffelimination kommt, wenn aufgrund der Ver-

minderung der Leberdurchblutung eine Hypoxie der Hepatozyten entsteht, die geeignet ist, zunächst zu einer Verfettung der Zellen und anschließend zu deren Untergang zu führen; selbstverständlich spielt auch der verminderte Blutfluß in der Leber und das damit herabgesetzte Farbstoffangebot bei der erhöhten Retention eine Rolle.

5.4.9. Lebertrauma

Ein fünf Monate alter Saluki (Nr. 20) wurde mit unspezifischen Symptomen eingeliefert: Anämie, Apathie und Herz-Kreislaufinsuffizienz. Hohe Leberenzymwerte (AST, ALT) veranlaßten die Durchführung des ZFT. Das Ergebnis fiel mit $k = 0,068$ und einer PAH von 3 % nur geringgradig pathologisch aus. Zwei Wochen später starb der Hund, er war zwischenzeitlich wieder aus der Klinik entlassen worden. Das pathologische Gutachten erklärte die Befunde der klinischen und labor-diagnostischen Untersuchungen: Der Tod war infolge akuter Hypovolämie nach traumatischen Leberrupturen eingetreten, daneben bestanden Anzeichen für ein älteres Trauma. Die hohen AST- und ALT-Werte zeigten also die Zellzerstörung an, während die Funktion der Leber als Gesamtorgan nicht oder nur sehr wenig beeinträchtigt war, wie im ZFT nachgewiesen werden konnte.

5.4.10. Krampfanfälle

In den folgenden drei Fällen ging es um die Abklärung, ob möglicherweise eine Lebererkrankung ursächlich für das Auftreten der Krampfanfälle in Betracht zu ziehen sei. Der Anstieg von Stoffwechselprodukten im Serum, die in der Leber nicht entgiftet werden können, so z.B. des höchst neurotoxischen Ammoniak aus dem Proteinmetabolismus, oder auch von Mercaptan, entstehend aus der Desaminierung schwefelhaltiger Aminosäuren, speziell des Methionins, können zentralnervöse Störungen in Form von Krampfanfällen auslösen; es kommt in diesen Fällen zum sogenannten hepatoencephalen Syndrom (45, 63). Während bei den Hunden Nr. 22 und 23 trotz z. T. stark erhöhter Serumenzymwerte kein Hinweis auf eine Störung der Ausscheidungsfunktion der Leber gegeben war ($k_{ZFT} = 0,086$, bzw. $0,092$), konnte bei dem Patienten Nr. 21 eine Lebererkrankung auch mit dem ZFT bestätigt werden ($k = 0,042$, PAH = 46%). Zudem war die leberspezifische ALT über mehre-

re Monate gering- bis mittelgradig erhöht. Der Ammoniumbelastungstest dagegen war nicht krankhaft verändert, es erfolgte 30 Minuten nach der oralen Gabe von Ammoniumchlorid kaum ein Anstieg der Blutkonzentration von Ammoniak (80 und 84 $\mu\text{g/l NH}_4\text{Cl}$).

Die stark erhöhten Enzymwerte der AST und insbesondere der CK bei dem Yorkshire Terrier Nr. 22 sind wohl auf die starke Krampfbereitschaft der Muskulatur zurückzuführen. Es ist leicht vorstellbar, daß diese Enzyme, die ja in der Muskelzelle in hoher Aktivität vorliegen, aus den nach tonisch-klonischen Krämpfen geschädigten Zellen ins Serum ausgetreten sind. Der ZFT ($k = 0,086$) jedenfalls lieferte keinen Hinweis auf eine eingeschränkte Leberfunktion.

Hund Nr. 23 mußte zwei Monate nach Durchführung des ZFT euthanasiert werden, die zentralnervösen Störungen dürften laut Sektionsbericht neuropathologischen Ursprungs gewesen sein. Die Leber war nicht pathologisch verändert. Dieser Hund zeigte auch mit $k = 0,092$ eine normale Farbstoffelimination. Eine Hepatopathie scheidet damit als Ursache für die Krampfanfälle aus.

5.4.11. Hepatomegalie ungeklärter Genese

In den folgenden beiden Fällen imponierte palpatorisch und röntgenologisch eine starke Vergrößerung der Leber.

Beim Patienten Nr. 24 mit Prostatitis wurde in der Leberbiopsieprobe lediglich eine RES-Aktivierung nachgewiesen, die symptomatisch für einen Entzündungsprozeß ist, an den Leberzellen selbst konnte kein auffälliger Befund erhoben werden. AP, NH_3 und Leukozyten waren über die Norm angestiegen, der ZFT konnte keine Ausscheidungsstörung der Leber nachweisen ($k = 0,080$). Die Urinuntersuchung wies auf eine Nieren- und Blasenentzündung hin. Die Veränderungen von Haut und Haarkleid können im Zusammenhang mit der Prostatahypertrophie stehen und auf hormonelle Störungen zurückzuführen sein, wie sie bei älteren Rüden häufig vorkommen. Ein Anhaltspunkt für eine Hepatopathie konnte allerdings nicht gefunden werden.

Beim Rauhaardackel Nr. 25 konnte neben der Hepatopathie unklarer

Ursache außer einer Diskopathie in Hals- und Lendenwirbelsäule kein auffälliger Befund erhoben werden. Die Leberfunktion ($k = 0,095$) war offensichtlich in keiner Weise beeinträchtigt.

5.4.12. Hauterkrankungen

In den beiden letzten Fällen sollte abgeklärt werden, ob neben der apparenten Hauterkrankung zusätzlich eine Leberschädigung bestand. Patient Nr. 26, ein Deutscher Schäferhund, litt an chronisch rezidivierender Dermatitis und Follikulitis, Patient Nr. 27 an einer Panniculitis non suppurativa. Bei beiden Hunden konnte eine Hepatopathie aufgrund der Laboruntersuchungen (AST, ALT, AP, G1DH und g-GT) und des ZFT ($k = 0,089$, bzw. $0,110$) mit Sicherheit ausgeschlossen werden; die Patienten wurden nach Abheilung der Hautveränderungen als geheilt entlassen.

5.5. Zusammenfassende Wertung des ZFT

Die wesentliche Anforderung an einen Organfunktionstest, nämlich die Unterscheidung zwischen "gesund" und "krank", konnte der ZFT in der vorliegenden Untersuchung eindeutig erfüllen, es kam zu keiner einzigen Fehldiagnose. Der ZFT ist sehr gut geeignet, frühzeitig und exakt quantitativ eine Störung der Ausscheidungsfunktion der Leber nachzuweisen. Die Qualität von Lebererkrankungen jedoch zu erkennen, ist er nicht imstande, was hier nochmals deutlich betont werden muß. Zu diesem Zweck sind zusätzliche Untersuchungen zur Klärung der Ätiologie notwendig. Seine Eignung zur Verlaufskontrolle und Einschätzung der Ernsthaftigkeit von Lebererkrankungen soll untenstehende Tabelle 9 unterstreichen, in der die Eliminationskonstanten, die entsprechenden PAH-Werte und die dazugehörigen Entlassungsbefunde aufgelistet sind. (siehe S. 90).

Man kann davon ausgehen, daß die Prognose für Patienten, deren PAH um 60 % oder höher liegt, zumindest als vorsichtig einzuschätzen ist. Die von diesem Anhaltspunkt abweichenden Ergebnisse lassen sich wie folgt interpretieren: Patient Nr. 3 (Gallengangskarzinom) eliminierte die Farbstofflösung zwar noch relativ schnell (PAH nur 14 %), jedoch ist anzunehmen, daß zum Zeitpunkt der Testdurchführung zwei

Tab. 9: Zusammenfassung der Ergebnisse des ZFT (k und PAH) und des Entlassungsbefundes von 27 Patienten

Patient Nr.	k (min^{-1})	PAH (%)	Entlassungsbefund
1	0,027	61	Euthanasie
2	0,018	74	Euthanasie
3	0,060	14	Euthanasie
4	0,038	46	
7 Tg.später	0,062	11	gebessert
5	0,013	76	gebessert
6	0,025	64	geheilt
7	0,045	36	
4 Tg.später	0,067	4	geheilt
8	0,076	-	geheilt
9	0,083	-	geheilt
10	0,028	60	gestorben
11	0,030	57	gebessert, ev. bleibende Leber-
12	0,030	57	gestorben schädigung
13	0,042	40	gebessert
14	0,062	11	gebessert
15	0,065	7	gebessert
16	0,012	74	Euthanasie
17	0,046	34	gebessert
18	0,069	1	gebessert
19	0,090	-	geheilt
20	0,068	3	gestorben
21	0,042	46	gebessert
22	0,080	-	gebessert
23	0,092	-	Euthanasie
24	0,080	-	geheilt
25	0,095	-	geheilt
26	0,089	-	geheilt
27	0,110	-	geheilt

Monate vor der Euthanasie die Leber in ihrer Gesamtfunktion erst wenig gestört war.

Die Todesursache bei Patient Nr. 20 (traumatische Leberruptur, PAH = 3 %) lag nicht in einer Funktionsbeeinträchtigung der Leber, sondern der Hund starb an Hypovolämie nach Leberruptur. Der ZFT hat also auch in diesem Falle kein falsches Ergebnis erbracht. Bei Patient Nr. 5 dagegen, einem Hund mit sehr hoher PAH (76 %), ist die rasche klinische Besserung darauf zurückzuführen, daß es sich um eine sekundäre Cholestase, bedingt durch die starke Duodenitis, handelte, nach deren Ausheilung die Ursache beseitigt war und die Galle wieder ungehindert abfließen konnte. Eine bleibende Leberschädigung ist in diesem Falle nicht zu erwarten.

Unter den definierten Bedingungen der LC-induzierten Cholestase zeigte der ZFT sehr empfindlich in Übereinstimmung mit dem klinischen Bild die entstandene Leberfunktionsstörung an und vermittelte somit ein repräsentatives Bild vom Ausmaß der Eliminationsbeeinträchtigung dieses Organs.

Während der vorliegenden Untersuchung stellte sich heraus, daß der ZFT besonders gut geeignet ist, akute Erkrankungen der Leber aufzuzeigen, während chronische Hepatopathien weniger deutlich in einer Eliminationshemmung des BSP in der ZFT-Lösung in Erscheinung traten. Eine das Allgemeinbefinden des Patienten beeinträchtigende Ausscheidungsstörung des Organs konnte jedoch in jedem der untersuchten Fälle eindeutig nachgewiesen werden.

Abschließend noch einige Hinweise und Vorschläge zur technischen Durchführung des Tests:

Es ist peinlich genau auf die Vermeidung von Hämolyse bei der Blutentnahme und Aufbereitung der Proben, insbesondere beim Zentrifugieren zu achten, hämolytische oder trübe Seren sind zur Auswertung ungeeignet und deshalb zu verwerfen.

Aufgrund des Verhältnisses von BSP : TR von 3 : 1 ist auf genaues Pipettieren Wert zu legen, da sich auch geringe Fehler mit dem Faktor 3 multiplizieren und somit zu einer groben Fehlinterpretation des Ergebnisses führen können.

Für Untersuchungen in der Veterinärmedizin wäre es wünschenswert, wenn vom Hersteller ZF-Testlösungen mit einem engeren Verhältnis von BSP : TR als 3 : 1 angeboten würden. Meßungenauigkeiten, insbesondere bei der Bestimmung der TR-Konzentrationen aufgrund der niedrigen Extinktionswerte für TR in den untersuchten Seren, würden so weniger das Ergebnis des ZFT verfälschen können.

Außerdem wäre es aus wirtschaftlichen Gründen zu begrüßen, wenn die Testsubstanz in kleineren Ampullen (z.B. zu 2 und 5 ml) in den Handel käme, da selten Hunde mit hohem Gewicht zum Test vorgestellt werden und angebrochene Ampullen möglichst noch am gleichen Tag aufgebraucht werden sollten.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Der ZFT wurde 58 mal an 44 verschiedenen Hunden unterschiedlicher Rasse, Alters und Geschlechts durchgeführt. Die durchschnittliche Eliminationskonstante k von 17 gesunden Hunden lag bei $0,096 \pm 0,015 \text{ min}^{-1}$ (Streubreite $0,072 - 0,119 \text{ min}^{-1}$).

Fünf Beaglerüden wurden einem Cholestaseversuch mit Lithocholsäure unter definierten Bedingungen unterzogen. Es konnte gezeigt werden, daß nach Eintritt der Cholestase, abgesichert durch anderweitige Laboruntersuchungen, eine dem Grad ihrer Ausprägung entsprechende Eliminationshemmung für das BSP in der ZFT-Lösung eintrat.

Die gute Übereinstimmung zwischen der Eliminationskonstanten k und den Parametern Enzymaktivitäten, Serumbilirubin, ICG-Test und sonstigen Laboruntersuchungen (SGS, NH_3), sowie dem klinischen Befund und den patho-histologischen Untersuchungen von Leberpunktaten war gegeben.

An 27 Patienten der I. Medizinischen Tierklinik wurde mit Hilfe des ZFT die Ausscheidungsfunktion der Leber überprüft. Die Ergebnisse des ZFT wurden bei folgenden Erkrankungen diskutiert: Leberzirrhose, Gallengangskarzinom, Fettleber, Magen-Darm-Erkrankungen mit, bzw. ohne Hepatopathie, verschiedene Vergiftungen, Cushing-Syndrom, Cystitis, Herzinsuffizienz, Lebertrauma, Krampfanfälle, Hepatomegalie ungeklärter Genese und Hauterkrankungen.

Der Grenzwert der Eliminationskonstanten k zur Unterscheidung zwischen "lebergesund" und "leberkrank" konnte empirisch auf 0,070 festgelegt werden, er liegt somit geringfügig über dem von M i e l k e (93) angegebenen von $k = 0,065$.

Die gute Eignung des ZFT zur Früherkennung und quantitativen Einschätzung von Leberfunktionsstörungen, sowie zur Verlaufskontrolle und Prognosestellung bei manifesten Lebererkrankungen ist beschrieben.

7. SUMMARY

The "Two Dye Test" on the dog as a quantitativ liver function test.

The "Two Dye Test" was performed 58 times on 44 different dogs of various breeding, age and sex. The average elimination constant k in dogs of good health was found to be $\bar{x} = 0,096 \pm 0,015$ with a range of 0,072 - 0,119.

Five male beagles were subjected to a test of experimental cholestasis with lithocholic acid under defined conditions. It could be shown that the BSP-excretion of the "Two Dye Test"-solution was limited according to the degree of cholestasis wich was affirmed by other labaratory examinations.

Elimination constants k were in accordance with other parameters as enzyme activities, serum bilirubin, ICG-test and other labaratory values (serum bile acids, NH_3), and also with clinical and pathohistological examinations of liver biopsy samples.

Liver excretory function was tested and discussed with the "Two Dye Test" in 27 patients of the I. Medizinische Tierklinik with following diseases: liver cirrhosis, bile duct carcinoma, fatty liver degeneration, intestinal disorders with and without secondary hepatopathy, different kinds of poisonings, Cushing syndrome, cystitis, heart insufficiency, liver injuries, spasmodic fits, hepatomegaly of unknown origin and skin diseases.

The lower limit of normal for elimination constant k for differentiation between hepatic "soundness" or "illnes" could be established as $k = 0,070$.

Thus the value is a little higher compared to the value of $k = 0,065$ found by M. i. e. l k e (93).

The suitability of the "Two Dye Test" for early recognition and quantitativ estimation of liver function deficiencies as well as of assessing the course and prognosis in manifest liver disease are described.

8. LITERATURVERZEICHNIS

1. AKTAN, F.
Die Leberfunktionsprüfung mit Bromthalein beim Pferde.
Monatshefte für Veterinärmedizin, 9,5, 97-101, 1954.
2. ANDERSON, N. V.
Vet. Gastroenterol.; Lea and Febiger
Philadelphia, USA, 1980.
3. APPEL, M.
Vergleichende Untersuchungen mit verschiedenen Leberfunktions-
prüfungen beim Pferd.
Inaug. Diss., Hannover, 1956.
4. BARBIER, F.; DE WEERDT, G.A.
Chromatography and J.R. Spectrography of Indocyanine Green.
Clin. Chim. Acta, 10, 549-554, 1964.
5. BLOOM, F.
The Diagnosis and Treatment of Liver Diseases of the Dog.
Small Anim.Pract., 38(1), 17-19, 1957.
6. BONASCH, H; CORNELIUS, CH.E.
Indocyanine Green Clearance - A Liver Function Test for the Dog.
Am. J. Vet. Res., 25, 254-259, 1964.
7. BOURDEAU, P.
Contribution A L'Etude De L'Epreuve A La Brome Sulfone Phthaleine
Chez Le Chien.
These Ecole Nationale Veterinaire D'Alfort, 1953.
8. BRAUER, R.W.; PESOTTI, R.L.
The mechanism of the extraction of bromosulfalein from blood
plasma by the liver.
Fed. Proc., 6/7, 207, 1947/48.
9. BRAUER, R.W.; PESOTTI, R.L.; KREBS, J.S.
The Distribution and Excretion of S 35 - Labelled Sulfobromo-
phthalein-Sodium, administered to Dogs by Continuous Infusion.
J. Clin. Invest., 34(1-4), 35-43, 1955.
10. BRAUN, G.; MEX, A.; PEZOLD, F.A.
Klinische und experimentelle Studien über den "Bromsulphaleintest".
Dt. Arch klin. Med., 200, 520-540, 1953.
11. BRÜGMANN, E.
Zur Frage eines Einflusses des Lebensalters auf die Normal-
werte der Ujoviridin (ICG)-Halbwertszeit.
Dt. Ztschr. Verdau.-u. Stoffwechselkr., 31, 131-133, 1971.
12. BUSH, B.M.
The Laboratory Evaluation of Canine Hepatic Disease.
Vet. Annual, 50, 57-65, 1980.

13. CAKALA, S.; BIENIEK, K.
Bromsulphthalein Clearance and Total Bilirubin Level in Cows Deprived of Food and Water.
Zbl. Vet. Med. A., 22, 605-610, 1975.
14. CAPLE, I.W.; VANDERGRAAFF, R.; MALMO, J.
Use of Sulphobromophthalein Liver Function Tests in Cows with Facial Eczema.
Austr. Vet. J., 52(4), 192-193, 1976.
15. CAPLOWITZ, N.; KOK, E.; JAVITT, N.B.
Postprandial Serum Bile Acid for the Detection of Hepatobiliary Disease.
J. Am. A., 225, 292-293, 1973.
16. CAPPA, V.; BERTONI, B.; GALIMBERTA, A.
Nuove Ricerche sul Controlle della Funzionalità epatica nei Ruminanti.
Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, 26, 371-372, 1972.
17. CLARKSON, M.J.; RICHARDS, T.G.
Steady-State Plasma Clearance of Bromsulphthalein and Indocyanine Green Measured bei Single Injection.
Res. Vet. Sci., 8, 454-462, 1967.
18. COHN, C.; LEVINE, R.; STREICHER, D.
The Rate of Removal of Intravenously Injected Bromsulphthalein by the Liver and Extrahepatic Tissues of the Dog.
Am. J. Physiol., 150, 299-303, 1947.
19. CORNELIUS, CH.E.
Canine Diseases of the Liver. Laboratory Diagnosis, New Concepts and Methods.
Mod. Vet. Practice, 39, 57-64, 1958.
20. CORNELIUS, CH.E.
Liver Function, in: Biochemistry of Domestic Animals.
2nd Ed., Vol. 1, 1970, ed. by J.J. Kaneko, New York.
21. CORNELIUS, CH.E.
Hepatic Disease in Animals, in: Progress in Liver Diseases, Vol. III, ed. by H. Popper; F. Schaffner, Chapt. 25, 419-431, 1970.
22. CORNELIUS, CH.E.; HOLM, L.W.; JASPER, D.E.
Bromsulphthalein Clearance in Normal Sheep and in Pregnancy Toxemia
Cornell Vet., 48, 305-312, 1958.
23. CORNELIUS, CH.E.; THEILEN, G.S.; RHODE, E.A.
Quantitative Assessment of Bovine Liver Function Using the Sulphobromophthalein Sodium Clearance Technique.
Am. J. Vet. Res., 19, 560-566, 1958.
24. CORNELIUS, CH.E.; WHEAT, J.D.
Bromsulphthalein Clearance in the Horse - a Quantitative Liver Function Test.
Am. J. Vet. Res., 18, 369-374, 1957.

25. DAHME, E.; WEISS, E.
Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.
Enke Verlag, Stuttgart, 1978.
26. DANIELSSON, B.; EKMAN, R.; JOHANSSON, B.G.; PETERSON, B.G.
Abnormal Low Density Plasma Lipoproteins accuring in Dogs with
Obstructive Jaundice.
Vet. Eur. Biochem. Soc. Lett., 63, 33-36, 1976.
27. DOST, F.H.
Der Blutspiegel. Thieme Verlag, Leipzig, 1953.
28. DOST, F.H.
Halbwertszeit und Total-Clearance.
Ztschr. Ges. Inn. Med., 9, 546-552, 1954.
29. DOST, F.H.
Die Entwicklung des Clearance - Verfahrens zu einer Funktions-
probe von allgemeiner klinischer Bedeutung.
Ztschr. Ges. Inn. Med., 13, 245-252, 1958.
30. DRILL, V.A.; IVY, A.C.
Comparative Value of Bromsulphalein, Serum Phosphatase, Pro-
thrombin Time and Intravenous Galactose Tolerance Tests in
Detecting hepatic Damage produced by Carbon Tetrachloride.
J. Clin. Invest., 23, 209-216, 1944.
31. EHRKE, D.; JANECKI, J.; SEIFERT, A.; BALZER, H.
Die Elimination des Indocyanin-Grün-Farbstoffs "Wofaverdin"
bei Leberzirrhotikern zur Beurteilung unterschiedlicher
Schweregrade.
Acta Hepatosplenol. (Stuttgart), 15, 102-107, 1968.
32. EIKMEIER, H.
Untersuchungen über die Leberkrankheiten des Hundes.
Zbl. Vet. Med., 7, 289, 1959.
33. ENGLERT, E.
Albumin-binding and Hepatic Uptake of Anionic Dyes.
Clin. Res., 7, 289, 1959.
34. FAUVERT, R.E.
The Concept of Hepatic Clearance.
Gastroenterol., 37, 603-616, 1959.
35. FELLIN, R.; MANZATO, E.; ZOTTI, S.; BAGGIO, G.; BRIANI, G.; RUGGE, M.
Lipoprotein X and Diagnosis of Cholestasis: Comparison with
other Biochemical Parameters and Liver Biopsy.
Clin. Chim. Acta, 85, 41-47, 1978.
36. FELLNER, F.; KARSAI, F.
Beiträge zur Frage der Bromsulfaleinausscheidung und -resorption.
Acta Vet. Acad. Scient. Hung., 10, 281-294, 1960.
37. FIEBIGER, I.
Versuche zur Entwicklung eines Cholestasemodells bei der Ratte
und deren Beeinflussung durch Choleretica.
Inaug. Diss., München 1980.

38. FIESEL, A.
Die Bromsulphaleinprobe zur Leberfunktionsprobe beim normalen, mangelernährten und chloroformvergifteten Schwein.
Inaug. Diss., Hannover, 1957.
39. FORBES, T.J.; SINGLETON, A.G.
Bromsulphthalein Liver Clearance in Non-Pregnant Ewes.
British Vet. J., 122, 55-64, 1966.
40. FOX, I.J.; BROOKER, L.S.G.; HESELTINE, D.W.; HIRAM, E.; WOOD, E.H.
A Tricarboyanine Dye for Continuous Recording of Dilution Curves in Whole Blood Independent of Variations in Blood Oxygen Saturation.
Proc. Staff Meetings Mayo Clin., 32, 478-484, 1957.
41. FREESE, U.
Die Leberfunktionsprüfung mit Bromsulphalein beim Rind.
XV. Int. Vet. Congr., Stockholm, Proc. Part 1, Vol. 2, 1034-1039, 1953.
42. FREITAG, A.
Versuche zur Entwicklung eines intrahepatischen Cholestasemodells beim Hund mit Lithocholsäure.
Inaug. Diss., München, 1982.
43. GAEBLER, O.H.
Determination of Bromsulphalein in Normal, Turbid, Haemolyzed or Icteric Serums.
Am. J. Clin. Path., 15, 452-455, 1945.
44. GLAWISCHNIG, E.
Erfahrungen mit einigen zur Leberfunktionsprüfung empfohlenen Methoden bei Rind und Schwein.
Wiener Tierärztl. Monatsschrift, 49, 727-738, 1962.
45. GOLDSTON, R.T.; WILKES, R.D.; SEYBOLD, I.M.
Hepatic Function Test.
Vet. Med./Small Anim. Clin., 76(5), 642-645, (6), 795-796, (7), 760-764, (8), 1123-1126, 1981.
46. GOODMAN, R.D.
Bromsulphalein Clearance: A Quantitative Clinical Test of Liver Function.
J. Lab. Clin. Med., 40, 531-536, 1952.
47. GORNALL, A.G.; BARDAWILL, C.J.
The Study of Liver Function in Dogs.
Canad. J. Biochem., 30, 256-271, 1952.
48. GRAUSZ, H.; SCHMID, R.
Reciprocal Relation between Plasma Albumin Level and Hepatic Sulfobromophthalein Removal.
New Engl. J. Med., 284(25), 1403-1406, 1971.
49. GREMMEL, W.
Die Verwendbarkeit des Bromsulphaleins zur Prüfung der Leberfunktion beim Hund.
Inaug. Diss., Hannover, 1951.

50. GRONWALL, R., CORNELIUS, CH. E.
Maximal Biliary Excretion of Sulfobromophthalein Sodium in Sheep.
Am. J. Dig. Diseases, 15, 37-47, 1970.
51. GRÜNING, H.
Laparoskopie und Funktionsprüfungen bei Lebererkrankungen des Hundes
Inaug. Diss., Hannover, 1961.
52. HÄCKI, W.; BIRCHER, J.; PREISIG, R.
A New Look at the Plasma Disappearance of Sulfobromophthalein (BSP):
Correlation with the BSP Transport Maximum and the Hepatic Plasma
Flow in Man.
J. Lab. Clin. Med., 88, 1019-1031, 1976.
53. HALLMANN, L.
Leberfunktionsproben.
Klin. Chemie und Mikroskopie, 11. Auflage, 256-258, 1980.
54. HANUSCH, A.
Leberfunktionsdiagnostik mittels der Bromsulphalein-Probe.
Ztschr. Ges. Inn. Med., 7, 111-116, 1952.
55. HANUSCH, A., HEUCHEL, G., STEINER, G.
Bromsulphalein-Halbwertszeit, hepatische und renale Farbstoff-
elimination.
Schweiz. Med. Wschr., 29, 710-713, 1958.
56. HARGREAVES, T.
Liver Tests.
Liver and Bile Metabolism. Appleton Century Croft, 248-251,
New York, 1968.
57. HEGNER, D.
Physiologie und Pathophysiologie der Serumgallensäuren und deren
Bedeutung in der Diagnostik.
27. Jahrestagung der DVG, Fachgruppe Kleintierkrankheiten, 143-
154, München, 29.-31. Okt. 1981.
58. HEGNER, D., KRAFT, W.
Importance of Serum Bile Acids in the Diagnosis of Liver Dis-
eases in the Dog.
Proc. second International Symposium of Vet. Laboratory Diagno-
sticians, 2, 171-173, June 24-26, 1980, Lucerne, Switzerland.
59. HERKEN, H.; STAPENHORST, K.
Die Bromsulphalein-Probe. Ihre Vorzüge und ihre Begrenzungen.
Dt. Archiv klin. Med., 202, 52-66, 1955.
60. HIMES, J. A.; CORNELIUS, CH. E.
Hepatic Excretion and Storage of Sulfobromophthalein Sodium
in Experimental Hepatic Necrosis in the Dog.
Cornell Vet., 63, (3), 424-431, 1973.
61. HOE, C. M.; O'SHEA, J. D.
The Correlation of Biochemistry and Histopathology in Liver
Diseases in the Dog.
Vet. Rec., 77, (40), 1164-1171, 1965.
62. HOE, C. M.; HARVEY, D. G.
"Tests other than Transaminase" aus "An Investigation into
Liver Function Tests in Dogs".
J. Small Anim. Pract., 2, 111-112, 1961.

63. HOE, C.M.; WILKINSON, J.S.
Liver Function: A Review.
Australian Vet. J., 49, 163-169, 1973.
64. HOERLEIN, B.F.; GREENE, J.E.
The Bromsulphalein Liver Function Test as an Aid in the Diagnosis of Canine Hepatosis.
North Am. Vet., 31, 662-665, 1950.
65. HUNTON, D.B.; BOLLMAN, J.L.; HOFFMAN, H.N.
The Plasma Removal of Indocyanine Green and Sulfobromophthalein: Effect of Dosage and Blocking Agents.
J. Clin. Invest., 40, 1648-1655, 1961.
66. IMESCH, B.; HÄCKI, W.; BIRCHER, J.
Was mißt die BSP-Retention? Ein Vergleich mit BSP-Transportmaximum, -Speicherkapazität und Galaktose-Eliminationskapazität.
Schweiz. Med. Wschr., 103, 397-403, 1973.
67. INGELFINGER, F.J.; BRADLEY, S.E.; MENDELOFF, A.I.; KRAMER, P.
Studies with Bromsulphalein. Its Disappearance from the Blood after a single intravenous Injection.
Gastroenterology, 11, (5), 647-657, 1948.
68. JABLONSKI, P.; OWEN, J.A.
The Clinical Chemistry of Bromsulphophthalein and other Cholephilic Dyes.
Adv. Clin.Chem., 12, 309-386, 1969.
69. JAVITT, N.B.
Clinical and Experimental Aspects of Sulphobromophthalein and Related Compounds.
in: Progress in Liver Diseases, Vol.III, ed. by H. Popper and F. Schaffner, New York, 110-117, 1970.
70. KAMISAKA, K.; YATSUJI, Y.; YAMADA, H.; KAMEDA, H.
The Binding of Indocyanine Green and other Organic Anions to Serum Proteins in Liver Diseases.
Clin. Chim. Acta, 53, 255-264, 1974.
71. KASBOHM, C.; LETTOW, E.
Tödlicher Zwischenfall nach Bromsulphalein-Injektion bei einem Hund.
Berl. u. Münch. Tierärztl. Wschr., 13, 251-253, 1970.
72. KENWRIGHT, S.; LEVI, A.J.
Sites of Competition in the Selective Hepatic Uptake of Rifamycin-SV, Flavaspidic Acid, Bilirubin and Bromsulphthalein.
Gut, 15, 220-226, 1974.
73. KLAASSEN, C.D.
Extrahepatic Distribution of Sulfobromophthalein.
Can. J. Physiol., 53 (1-3), 120-123, 1975.
74. KNOLL, L.
Die Serumenzymaktivitäten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase und Sorbitdehydrogenase beim Hund unter experimenteller Lithocholsäure-Cholestase.
Inaug. Diss., München, 1982.

75. KOLLING, A.
Untersuchungen über die Störung des Leberstoffwechsels beim Hyperkortisolismus (Cushing Syndrom) des Hundes mit Hilfe von Leberfunktionsproben und Punktathistologie.
Inaug. Diss., FU Berlin, 1980.
76. KRAFT, W.; DÜRR, U.M.
Kompendium der klinischen Laboratoriumsdiagnostik bei Hund, Katze und Pferd.
Hannover 1981, Verlag M. & H. Schaper, 2. Auflage.
77. KRAFT, W.; GHERMAI, A.K.; WINZINGER, H.; KNOLL, L.
Vergleich der Serumaktivitäten von AST, ALT, G1DH, AP und G-GT in der Diagnostik von Lebererkrankungen des Hundes.
B. M. T. Wschr., 96, 421-431, 1983.
78. KRIEGER-HUBER, S.
Zur Diagnose von Leberkrankheiten beim Hund.
Prakt. Tierarzt, 56, (7), 413-415, 1975.
79. KROLL, H.T.
Leberfunktionsproben bei normal- und eiweißmangelernährten Scheinen nach Zimmer.
Inaug. Diss., Hannover, 1961.
80. LANIGAN, G.W.; PETERSON, J.E.
Bromsulphophthalein Clearance Rates in Sheep with Pyrrolizidine Liver Damage.
Austral. Vet. J., 55, (5), 220-224, 1979.
81. LARSON, E.J.; MORRIL, C.C.
Evaluation of Bromsulphophthalein Liver Function Test in the Dog.
Am. J. Vet. Res., 949-957, 1960.
82. LEEVY, C.M.
Indocyanine Green Clearance: A Test of Liver Excretory Function.
Clin. Res., 7, 290, 1959.
83. LETTOW, E.
Leberfunktionsproben beim Hund.
Kleintierpraxis, 3, 34, 1958.
84. LETTOW, E.
Lebererkrankungen beim Hund.
Tierärztliche Praxis, 3, 4, 323-328, 1974.
85. LETTOW, E.
Untersuchungen zur Diagnose der Lebererkrankungen des Hundes; 6. Bromsulphophthalein-Ausscheidung.
Zbl. Vet. Med., 2, 95-101, 1962.
86. LEVI, A.J.; GATMAITAN, Z.; ARIAS, J.M.
Two Hepatic Cytoplasmatic Protein Fractions, Y and Z, and their Possible Role in the Hepatic Uptake of Bilirubin, Sulfobromophthalein and other Anions.
J. Clin. Invest., 48, 2156-2167, 1969.
87. LORBER, S.H.; OPPENHEIMER, M.J.; SHAY, H.; LYNCH, P.; SIPLET, H.
Enterohepatic Circulation of Bromsulphalein: Intraduodenal, Intraportal and Intravenous Dye Administration in Dogs.
Am. J. Physiol., 173, 259-264, 1953.

88. LORBER, S.H.; SHAY, H.
Enterohepatic Circulation of Bromsulphalein.
Gastroenterol., 20, 262-271, 1952.
89. MADDISON, J.E.
Portosystemic Encephalopathy in two Young Dogs: Some Additional
Diagnostic and Therapeutic Considerations.
J. Small Anim. Pract., 22, (11), 731-739, 1981.
90. MENDELOFF, A.I.; KRAMER, P.; INGELFINGER, F.J.; BRADLEY, S.E.
Studies with Bromsulphalein. II. Factors Altering its Disappearance
from the Blood after a Single Intravenous Injection.
Gastroenterology, 13, 222-234, 1949.
91. MIELKE, H.
Der BSP-Leberfunktionstest beim Hund.
I. Mitteilung: Die direkte Bestimmung der Farbstoffretention.
Arch. Exp. Vet. Med., 13, 358-379, 1959.
92. MIELKE, H.
Der BSP-Leberfunktionstest beim Hund.
II. Mitteilung: Die Bestimmung indirekter Eliminationsgrößen.
Arch. Exp. Vet. Med., 13, 381-402, 1959.
93. MIELKE, H.
Der BSP-Leberfunktionstest beim Hund.
III. Mitteilung: Der Zweifarbstofftest.
Arch. Exp. Vet. Med., 13, 860-873, 1959.
94. MILLS, M.A.; DRAGSTEDT, C.A.
Removal of Intravenously Injected Bromsulphalein from the Blood
Stream of the Dog.
Arch. Int. Med., 62, 216-221, 1938.
95. MIXNER, J.P.; ROBERTSON, W.G.
Bromsulphalein Elimination Rate in Dairy Cattle with Simultaneous
Determination of Liver Function and Blood and Plasma Volumes.
J. Dairy Sci., 39, 935, 1956.
96. MIXNER, J.P.; ROBERTSON, W.G.
Bromsulphalein Fractional Clearance in Dairy Cattle as a Criterion
of Liver Function and the Simultaneous Determination of Volumes
of Plasma and Blood
J. Dairy Sci., 40, 914-921, 1957.
97. MORGAN, H.C.
A Comparison of Uric Acid Determinations and Sulfobromophthalein
Sodium Retention Tests as an Index to Canine Liver Disfunction.
Am. J. Vet. Res., 20, 372-377, 1959.
98. MULLEN, P.A.
The Diagnosis of Liver Dysfunction in Farm Animals and Horses.
Vet. Rec., 99, (17), 330-334, 1976.

99. NADEAU, G.
A Simplified Bromsulphalein Clearance Test.
Am. J. Clin. Path., 24, 1-6, 740-746, 1954.
100. NAKAGAWA, S.; NAGATA, K.; NAGASHIMA, H.
Investigation of the Hepatic Excretion Mechanism of Indocyanine Green in Patients with Liver Disease.
III. Binding of Indocyanine Green to Plasma Proteins, with Particular Reference to the Clinical Evaluation.
Kumamoto Medical J., 30, 1, 9-15, 1977.
101. OPITZ, M.
Serumlipiduntersuchungen bei Hund und Katze, Normalwerte und ihre Bedeutung für die klinisch-diagnostische Anwendung.
Habil.schr., FU Berlin, 1971.
102. OPPENHEIMER, M.; ESSELLIER, A.; ROSENMUND, H.
Kombinierte Leberfunktionsprüfungen mit besonderer Berücksichtigung der Bromsulphaleinprobe.
Gastroenterologia, 77, 18-32, 1951.
103. OWEN, C.A.
The Effect of Enterohepatic Circulation on the Bromsulphalein-Test of Hepatic Function.
J. Lab. Med., 38, 583-584, 1951.
104. PARRISIUS, R.
4-Methyl-Umbelliferon (Hymecromon Inn) als Cholereticum bei Lithocholsäure-induzierter Cholestase des Hundes.
Inaug. Diss., München, 1982.
105. PEZOLD, F.A.; KESSEL, M.
Der Bromsulphaleintest in der Leberdiagnostik. Untersuchungen zur Methodik, Bewertung und klinische Brauchbarkeit.
Dt. Arch. klin. Med., 204, 518-544, 1957.
106. PFEIFER, A.
Der Bromsulphaleintest zur klinischen Leberfunktionsprüfung beim Schwein.
Zbl. Vet. Med., 17, 157-166, 1970.
107. PILLER, M.
Zur Frage der "normalen" Bromsulphalein-Ausscheidungskurve.
Gastroenterologia, 98, 129-145, 1962.
108. PILLER, M.; SCHMID, R.
Klinisch-experimentelle Untersuchungen zur Bromsulphalein-Clearance (BSP).
Gastroenterologia, 98, 129-145, 1962.
109. POPPER, H.; SCHAFFNER, F.
Ausscheidungsfunktion der Leber.
in: Die Leber: Struktur und Funktion, New York, 93-95, 1961.

110. PRATT, E.B.; BURDICK, F.D.; HOLMES, J.H.
Measurement of Liver Blood Flow in Unanesthetized Dog Using the Bromsulphalein Dye Method.
Am. J. Physiol., 171, 471-478, 1952.
111. RAPAPORT, E.; KETTERER, S.G.; WIEGAND, B.D.
Hepatic Clearance of Indocyanine Green.
Clin. Res., 7, 289-290, 1959.
112. RICHARDS, T.G.; TINDALL, V.R.; YOUNG, A.
A Modification of the Bromsulphthalein Liver Function Test to Predict the Dye Content of the Liver and Bile.
Clin. Sci., 18, 499-511, 1959.
113. RIESS, G.; SCHÖN, H.
Untersuchungen zur Auswertung des Bromsulphthalein - Tests.
Ärztl. Forsch., 14, I, 245-255, 1960.
114. ROBERTSON, W.G.; BAILEY, W.W.; LENNON, H.D.; MIXNER, J.P.
Determination of Liver Function and Plasma and Blood Volumes.
J. Dairy Sci., 39, 935, 1956.
115. ROBERTSON, W.G.; MIXNER, J.P.; BAILEY, W.W.; LENNON, H.D.
Determination of Liver Function, Plasma and Blood Volumes in Ketotic Cows, Using Bromsulphthalein.
J. Dairy Sci., 40, 977-980, 1957.
116. ROSE, M.; HAM, J.M.
The Biliary Excretion of Sulfbromophthalein in the Dog.
Austral. J. Exp. Biol., 57, 541-550, 1979.
117. ROSENTHAL, S.M.; WHITE, E.C.
Clinical Application of the Bromsulphthalein Test for Hepatic Function.
J. A. M. A., 84, 1112-1114, 1925.
118. ROSENTHAL, S.M.; WHITE, E.C.
Studies in Hepatic Function VI.
A) The Pharmacological Behaviour of Certain Phthalein Dyes.
B) The Volume of Selected Phthalein Compounds in the Estimation of Hepatic Function.
J. Pharmacol. Exp. Therap., 24, 265-288, 1925.
119. ROSOFF, L.jr.; ROSOFF, L.sr.
Biochemical Tests for Hepatobiliary Disease.
Surg. Clin. North Am., 57, 2, 257-273, 1977.
120. SCHAFFNER, F.; POPPER, H.
Classification and Mechanism of Cholestasis. in: Liver and Biliary Disease, ed. Wright, Warren, Millward-Sadler, Saunders Company, London, Philadelphia, Toronto, 296-323, 1979.
121. SCHRAGEL, F.
Klinische Erfahrungen über den Wert der Bromsulphthaleinprobe für die Differentialdiagnose, Verlauf und Prognose von Lebererkrankungen.
Wiener Med. Wschr., 106, 218-221, 1956.

122. SEIDEL,D.; BUFF,H.U.; FAUSER,U.; BLEYL,U.
On the Metabolism of Lipoprotein X (LP-X).
Clin. Chim. Acta, 66, 195-207, 1976.
123. SEIDEL,R.; HÖLZEL,W.; REISSMANN,G.
Chromodiagnostik der Leber mit Bromsulfan und Ujoviridin.
I. Mitteilung: Methodik und Normalwerte des Bromsulfan- und Ujoviridintests, Untersuchungen bei entzündlichen Lebererkrankungen und Fettleber.
Zschr. Ges. Inn. Med., 26,13, 435-441, 1971.
124. SEN,M.M.; RAHMAN,A.; MIA,A.S.
Liver Function Test in Goat.
Indian Vet. J., 53, 504-507, 1976.
125. SENSING,H.; ZABEL-LANGHENNING,R.; KÖHLER,P.; SCHOLTZE,P.
Zum diagnostischen Wert des Wofaverdintests.
Dt. Gesundheitswesen, 27, 2046-2049, 1972.
126. SIEDE,W.; SCHNEIDER,H.
Die Farbstoffausscheidungsteste bei Leberkrankheiten unter besonderer Berücksichtigung von Tetrabromphenolphthalein und rotem Prontosil.
Ärztl. Lab., 2, 267, 1956.
127. SPECH,H.J.; WERNZE,H.
Vergleichsanalyse von Bromsulphthalein-Eliminationskurven, relativer Speicherkapazität, Transportmaximum und Farbstoffretention nach 45 Minuten.
Klin. Wschr., 52, 499-504, 1974.
128. STIEHL,L.; AST,E.; CZYGAN,P.; FRÖHLICH,W.; RAEDSCH,R.; STIEHL,A.; KOMMERELL,B.
Die Serumgallensäuren bei Patienten mit hepatobiliären Erkrankungen: Ein empfindlicher Indikator eines Leberparenchymschadens oder einer Cholestase.
Inn. Med., 2, 14-21, 1978.
129. STROMBECK,D.R.
Laboratory Evaluation of Hepatic Disease. I. Function Tests. Small An. Gastroenterology, Stonegate Publishing, Davis, CA, USA, 489-496, 1979.
130. TUCKER,R.E.; MITCHELL,G.E.jr.; LITTLE,C.O.
The Sulfobromophthalein (BSP) Liver Function Test for Sheep.
J. Animal Sci., 32,4-6, 1190-1194, 1971.
131. VOGIN,E.E.; SCOTT,W.; MATTIS,P.A.
Hepatic Clearance of Indocyanine Green in the Beagle.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 119, 570-573, 1965.

132. WARMBIER, M.
Der Indocyanin-Grün-Leberfunktionstest zur Beurteilung von
Leberkrankheiten des Hundes.
Inaug. Diss. München, 1984.
133. WHEELER, H.O.; MELTZER, J.I.; BRADLEY, S.E.
Biliary Transport and Hepatic Storage of Sulfobromophthalein
Sodium in the unanesthetized Dog, in normal Man and in Patients
with Hepatic Disease.
J. Clin. Invest., 29, 4-8, 1131-1144, 1960.
134. WHEELER, H.O.; EPSTEIN, R.M.; ROBINSON, R.R.; SNELL, E.S.
Hepatic Storage and Excretion of Sulfobromophthalein Sodium
in the Dog.
J. Clin. Invest., 39, 1-3, 236-247, 1960.
135. WHELAN, G.; COMBES, B.
Competition by Unconjugated and Conjugated Sulfobromophthalein
Sodium (BSP) for Transport into Bile. Evidence for a Single
Excretory System.
J. Lab. Med., 78, 230-244, 1971.
136. WILDT, F.; WAGNER, K.; WILDT, S.
Untersuchungen zur Wertigkeit des Ujoviridin-Tests im Vergleich
zum Bromsulfan-Test bei akuten und chronischen Hepatopathien.
Zschr. ärztl. Fortbild., 71, (18), 841-843, Jena, 1977.
137. WINZINGER, H.
Alkalische Phosphatase, Gamma-Glutamyl-Transferase, Glutamat-
Dehydrogenase und Bilirubin bei Lithocholat-induzierter Chole-
stase des Hundes.
Inaug. Diss.; München, 1982.
138. WIRTS, C.W.; CANTAROW, A.; SNAPE, W.J.; DELSERONE, B.
Bile Volume and Excretion of Pigment and Bromsulfalein in Dogs
Receiving Carbon Tetrachloride.
Am. J. Physiol., 165, 680-687, 1951.
139. WITTE, D.M.
Untersuchungen zur Methodik der Bromsuphaleinprobe beim Rind.
Inaug. Diss., Hannover, 1970.
140. WRIGHT; ALBERTI; KARRAR; MILWARD-SADLER.
Liver and Biliary Disease, 391-408, 1971.
141. YEARY, R.A.; WISE, K.J.
Plasma Disappearance of Sulphobromophthalein or Indocyanine Green
in Unconjugated Hyperbilirubinemia.
Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol., 12, 1, 125-136, 1975.
142. Zimmer, V.
Bromsulphalein-Leberfunktionstest, Eliminationsgesetzmäßigkeit
und die sich daraus ergebenden Auswertungsmöglichkeiten.
Inaug. Diss., Humboldt-Universität Berlin, 1955.

143. ZIMMER, V.
Der Zweifarbstofftest. Eine neue quantitative Bromsulfo-
phthalein-Leberfunktionsprobe.
Ärztl. Lab., 1-2, 285-299, 1955/1956.
144. ZIMMER, V.
Der Zweifarbstofftest. Eine quantitative Leberfunktionsprobe.
Die Medizinische, 1838-1839, 1957, II.
145. ZIMMER, V.
Bromsulphalein-Leberfunktionstest.
Ärztl. Forschung, 10, 2, I, 68, I, 80, 1956.

Abschließend möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. W. Kraft für die Überlassung des Thomas, seine wissenschaftliche Anleitung und die immer bereitwillig und geduldig gewährte Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

Allen Mitarbeitern der I. Medizinischen Tierklinik, die mich stets beratend und tatkräftig unterstützten, möchte ich an dieser Stelle ebenfalls meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Lebenslauf

Name: Hubert Faußner

Geburtstag: 28.11.1955

Geburtsort: Wallerstein, Kreis Donauries

Eltern: Hubert Faußner, Baukaufmann, verstorben am 25.4.1962

Maria Faußner, geb. Ernst, Hausfrau

Ausbildung: 1962 bis Juli 1966: Volksschule in Neuburg/Donau

1966 bis 1975: Humanistischer Zweig des Descartes
Gymnasiums Neuburg/Donau

Mai 1975: Abitur an oben genanntem Gymnasium

Juli 1975 bis September 1976: Grundwehrdienst

November 1976 bis November 1981: Studium der
Veterinärmedizin an der Ludwig - Maximilians-
Universität in München

17.11.1981: Dritter Abschnitt der Tierärztlichen
Prüfung

Seit Januar 1982 Dissertation in der I. Medizinischen
Tierklinik unter Leitung von Herrn Prof. Dr. W. Kraft

Ab April 1983 Tätigkeit als Assistenztierarzt bei

Dr. Zimmermann/Dr. Lang, Möttingen, ab April 1984

bei Dr. Derkmann, Markt am Inn

18.5.1984 Verheiratung mit Martina Warmbier, München

